

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

**Facultad de Ciencias
Escuela Profesional de Ciencias Biológicas**



**“Incidencia de *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus* en
cebiche de pescado expendido en establecimientos del mercado
Capullanas y mercados zonales de Piura”**

TESIS

Presentada por:

Br. GIPSY GRECA GARCIA LAÑAS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

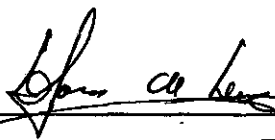
BIÓLOGA

PIURA-PERU

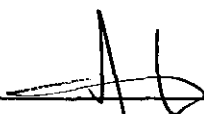
2015



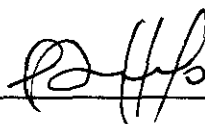
Br. Gipsy Greca García Lañas
Tesista



Blgo. Mcblgo. Dorothy Torres Gallo M. Sc
Asesor de Tesis



Blgo. Mcblgo. César Torres Díaz M. Sc
Presidente de jurado



Mcblgo. Jorge Luis Bermejo Benites
Secretario



Blga. Claudia del Pilar Ruiz González M. Sc
Vocal



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE CIENCIAS



ACTA DE SUSTENTACION N° 016-2015-FC-UNP

Los Miembros del Jurado Calificador, que suscriben, reunidos para evaluar la Tesis denominada " **INCIDENCIA DE *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus* EN CEBICI DE PESCADO EXPENDIDO EN ESTABLECIMIENTOS DEL MERCADO CAPULLANAS MERCADOS ZONALES DE PIURA** ", presentado por la señorita Bachiller **GIPSY GREGORIO GARCÍA LAÑAS**; oídas las observaciones y respuestas a las preguntas formuladas, y conformidad al Reglamento de Tesis para obtener el Título Profesional en la Facultad de Ciencias, la declaran:

APROBADA (X)

DESAPROBADA ()

Con la mención de :

MUY BUENO

(X) En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo de Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**.

() En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo Universitario de Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**; después que la sustentante incorpore la sugerencia del Jurado Calificador.

Piura, 08 de mayo de 2015.

Mcbig^o. **CÉSAR AUGUSTO TORRES DÍAZ, M. Sc.**
PRESIDENTE DE JURADO DE TESIS

Mcbig^o. **JORGE LUIS BERMEJO BENITE**
SECRETARIO DE JURADO DE TESIS

Big^o CLAUDIA DEL PILAR RUIZ GONZALEZ
VOCAL DE JURADO DE TESIS

DEDICATORIA:

*A Dios Nuestro Señor por ser verdadera fuente
de amor y sabiduría, a mis padres por ser mi fortaleza y la mano amiga
después de cada caída. LOS AMO.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios Nuestro Padre Celestial por cada día de vida y por poner en mi camino a personas amables que ofrecieron su ayuda desinteresadamente.

A mi padre Luis García por darme su apoyo incondicional en cada paso de mi vida.

A mi madre Lidia Lañas por ser la amiga y consejera, la fuerza y el ejemplo a seguir.

A mis hermanos por su apoyo y aliento.

A Richard, quien comparte conmigo tristezas, alegrías y quien me apoya en cada una de mis decisiones.

A mi asesora Mtblga. Dorothy Torres de León por la paciencia, orientación y apoyo profesional para la realización de esta tesis.

Al Técnico Martin Viera por las facilidades dentro del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Piura.

A mis amigos: Cinthya Mendoza Yarleque, Luis Sullon Pacherrres, Shirley Gutiérrez Tejada, Juan Carlos Tolentino Rebaza y Abraham Omar Espinoza Culupú por ofrecerme su ayuda para la ejecución de esta tesis.

A los señores de la Municipalidad provincial de Piura el área Medio Ambiente Población y salud, oficina de población salud e higiene por el apoyo brindado para la recolección de muestras en cada uno de los mercados evaluados.

Y a todos mis amigos que de alguna u otra manera me han ayudado para lograr esta meta.

INDICE

CONTENIDO	Pág.
INDICE DE TABLAS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	01-03
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	04-12
2.1. Población en estudio.....	04
2.2. Obtención de muestras.....	04
2.2.1. Identificación de las muestras.....	05
2.2.2. Transporte de muestras.....	05
2.3. Análisis de las muestras.....	06
2.3.1. Determinación del pH.....	06
2.3.2. Determinación de la temperatura.....	06
2.3.3. Análisis microbiológicos.....	07-12
2.3.3.1. Análisis microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i>	07
2.3.3.1.1. Pruebas complementarias.....	07-09
2.3.3.2. Análisis microbiológicos de <i>Salmonella sp</i>	10
2.3.3.2.1. Bioquímica para <i>Salmonella sp</i>	10-12
III. RESULTADOS.....	13-16
3.1. Determinación de pH y Temperatura.....	13
3.2. Encuesta a vendedores o manipuladores.....	13-14
3.3. Análisis microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i>	15
3.4. Análisis microbiológicos de <i>Salmonella sp</i>	15
3.5.- Incidencia de <i>Salmonella sp</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	16
IV. DISCUSIÓN.....	17-21
V. CONCLUSIÓN.....	22
VI. RECOMENDACIONES.....	23
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	24-31
ANEXOS.....	32-

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO

Tabla 01.- Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de cebiche de los puestos del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.	16
Tabla 02.- Incidencia de <i>Salmonella spp.</i> en muestras de cebiche de los puestos del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	16
Tabla 03.- Número total de puestos de los 4 mercados y puestos a muestrear del mercado Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	33
Tabla 04.- Encuesta realizada a expendedores de cebiche de los mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	33-34
Tabla 05.- Directiva sanitaria N°032 MINSA/DIGESA V01, cantidad de muestra a tomar para análisis microbiológicos de alimentos.....	35
Tabla 06.- Cuadro de resultados para <i>Staphylococcus aureus</i> de las muestras analizadas.....	36
Tabla 07.- Cuadro de resultados para <i>Salmonella spp.</i> de las muestras analizadas.....	36
Tabla 08.- Resultados de encuesta por número de puestos y porcentajes del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	37-40
Tabla 09.- Temperatura del ambiente, del alimento y pH de cada una de las muestras de los puestos del mercado las Capullanas y los mercados zonales de Piura.	41-42
Tabla 10.- Temperatura y pH máximo, mínimo y moda de las muestras de cebiche analizadas de los puestos del mercado las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	42
Tabla 11.- Resultados de los análisis microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i> de las colonias sospechosas de cebiche de los puestos de los mercados Las Capullanas y los mercados zonales y la cepa patrón.....	43
Tabla 12.- Resultados de los análisis microbiológicos de <i>Salmonella spp.</i> de las colonias sospechosas de cebiche de los puestos de los mercados las Capullanas y los mercados zonales y la cepa patrón.....	44

INDICE FIGURAS

CONTENIDO	Pág.
Fig. 01.- Ubicación del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	04
Fig. 02.- Etiquetas para la identificación de las muestras.....	05
Fig.03.- Transporte de muestras.....	05
Fig.04.- Determinación del pH de las muestras.....	06
Fig.05.- Observación de láminas portaobjetos coloración de Gram.....	08
Fig.06.- Esquema de las reacciones en la prueba de la coagulasa.....	09
Fig.07.- Temperatura del producto, ambiente y pH de las 57 muestras analizadas en los mercados las Capullanas y zonales de Piura.....	13
Fig.08.- Análisis microbiológico de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Fig.09.- Análisis microbiológicos de <i>Salmonella spp</i>	46
Fig.10.- Abastecimiento de agua de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.	47
Fig.11.- Forma de evacuación de aguas sucias de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	47
Fig.12.- Formas de almacenamiento de residuos sólidos en los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	47
Fig.13.- Aspecto general de limpieza de los puestos de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	48
Fig.14.- Aspecto general de limpieza de utensilios de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	48
Fig.15.- Presencia de indumentaria en los expendedores de los mercados las Capullanas y los mercados zonales de Piura.....	48
Fig.16.- Número de comensales de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	49

Fig.17.- Tipo de pescado utilizado en los puestos de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	49
Fig.18.- Preparación y exhibición del cebiche en los puestos de los mercados las Capullanas y zonales de Piura.....	49
Fig.19.- Capacitación en manipulación de alimentos a expendedores de cebiche de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.....	50
Fig.20.- Lavado de manos de los expendedores al usar los SS.HH.....	50
Fig.21.- Crecimiento en Agar Baird Parker de la Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632.....	51
Fig.22.- Crecimiento en Agar Baird Parker de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Fig.23.- Coloración de Gram (cocos Gram positivos) Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632.....	51
Fig.24.- Coloración Gram (cocos Gram positivos) de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Fig.25.- Prueba de la catalasa Cepa: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632.....	52
Fig.26.- Prueba de la catalasa de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Fig.27.- Prueba de la coagulasa de la cepa: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632 y de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Fig.28.- Prueba de la DNAsa de la cepa: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632.....	53
Fig.29.- Prueba de la DNAsa de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i> ...	53
Fig.30.- Prueba de manitol de la <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 11632.....	54
Fig.31.- Prueba de manitol de las colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Fig.32.- Crecimiento en Agar XLD de la cepa <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i> ATCC 13311.....	55

Fig.33.- Crecimiento en agar XLD de las muestras sospechosas de <i>Salmonella sp</i> ...	55
Fig.34.- Placas de agar XLD que no presentaron colonias sospechosas de <i>Salmonella sp</i> ...	56
Fig.35.- Placas de agar SS de la cepa <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i> ATCC 13311.....	57
Fig.36.- Placas de agar SS de las muestras sospechosas de <i>Salmonella sp</i> ...	57
Fig.37.- Coloración de Gram (bastones Gram negativos) de la cepa: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i> ATCC 13311.....	58
Fig.38.- Coloración de Gram de colonias sospechosas de <i>Salmonella sp</i> ...	58
Fig.39.- Prueba de Agar triple azúcar hierro (TSI) de las colonias sospechosas y la cepa patrón: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	59
Fig.40.- Prueba de Lisina hierro (LIA) de las colonias sospechosas y la cepa patrón <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	59
Fig.41.- Prueba de la Urea de las colonias sospechosas y la cepa patrón <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	60
Fig.42.- Prueba de citrato de Simmons para las colonias sospechosas y la cepa patrón: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	60
Fig.43.- Prueba de ROJO DE METILO para las colonias sospechosas y la cepa patrón: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	61
Fig.44.- Prueba de VOGUES PROSKAUER para las colonias sospechosas y la cepa patrón: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	61
Fig. 45.- Prueba de SIM para las colonias sospechosas y la cepa patrón: <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entérica serovar <i>typhimurium</i>	62
Fig. 46 y 47.- Resultados emitidos por el Instituto Nacional de la Salud.....	63-64

RESUMEN

Salmonella spp. y *Staphylococcus aureus* son patógenos de importancia en los alimentos y su presencia en estos es perjudicial para los consumidores. En la Región Piura, uno de los platos fríos más consumidos es el cebiche que se expende en puestos ambulantes, mercados y restaurantes que en la mayoría de los casos no cuentan con las medidas sanitarias adecuadas. Esta investigación determinó la incidencia de *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* en cebiche de pescado expendido en establecimientos del mercado las Capullanas y mercados zonales (San José, Santa Rosa y San Martín) de Piura. Se analizaron 57 muestras, 2 por semana, entre los meses de Mayo, Junio y Julio del 2014; procediendo a realizar una encuesta a los expendedores obteniendo datos importantes de los puestos. Se registró la temperatura (T°) del ambiente, la temperatura (T) *in situ* de cada una de las muestras colectadas, el pH y se realizó los análisis microbiológicos correspondientes: por el método de recuento en placa y siembra en superficie utilizando agar Baird Parker para *Staphylococcus aureus* y el método de ausencia/ presencia para *Salmonella spp.* Los resultados mostraron que no se detectó en las muestras la presencia de *Salmonella spp.* ni *Staphylococcus aureus*, obteniendo así una incidencia 0.0 de ambos microorganismos.

Palabra clave: Cebiche, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* e incidencia.

ABSTRACT

Salmonella spp. and *Staphylococcus aureus* are important pathogens in food and its presence in these is harmful to consumers. In Piura region, one of the most consumed cold dishes is ceviche that is sold in stalls, markets and restaurants in most cases do not have adequate sanitation. This investigation determined the incidence of *Salmonella spp.* and *Staphylococcus aureus* in fish ceviche expended on the local market and neighborhood markets Capullanas (San Jose, Santa Rosa and San Martin) Piura. ; 57 samples, 2 a week, between the months of May, June and July 2014 were analyzed proceeding to conduct a survey to obtain important data vending stalls. the temperature (T°) ambient, temperature (T°) in situ in each of the samples collected, the pH was recorded and the relevant microbiological analysis was performed: by the method of plate count and planting surface using agar Baird Parker *Staphylococcus aureus* and method of absence / presence of *Salmonella spp.* The results showed that not detected the presence of *Salmonella spp.* and *Staphylococcus aureus* in the sample, thereby obtaining a 0.0 incidence of both microorganisms.

Key word: Cebiche, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* and incidence.

I.-INTRODUCCIÓN

Los alimentos elaborados a nivel popular o en forma artesanal son considerados de obtención rápida y de bajo costo; eventualmente son una solución para parte de la población que enfrenta problemas de carácter socioeconómico. Esto obliga a que las personas que laboran en los centros urbanos y sus alrededores tengan que recurrir a los alimentos que se venden en pequeños comedores, en los mercados o en la vía pública.¹

El riesgo de intoxicación alimentaria asociado a los alimentos vendidos en la vía pública sigue siendo una amenaza en numerosas partes del mundo, y la contaminación microbiológica es uno de los mayores problemas en este sentido. Se sabe que los agentes patógenos de origen alimentario representan un grave peligro para la salud cuyo riesgo depende principalmente del tipo de alimento y del método de preparación y conservación. La ignorancia de los vendedores sobre las causas de las enfermedades de origen alimentario es un factor de riesgo que no se puede ignorar. La falta de higiene, el acceso inadecuado a las redes de agua potable y la eliminación de los desechos, así como un medio insalubre aumentan los riesgos para la salud pública.¹

Diversas características de los alimentos vendidos en la vía pública pueden generar riesgos para la salud. En términos generales esas características incluyen el tipo de producto alimentario el uso excesivo de aditivos alimentarios y el grado de contaminación microbiana. Los alimentos de menor riesgo incluye a los guisos de carne, cerdo, pollo o pescado y los alimentos a base de maíz, trigo y otros granos molidos que se asan a la parrilla o sobre fuegos preparados al carbón, madera o gas; los alimentos de alto riesgo incluye a los alimentos listos para servir como el cebiche preparados con pescado y mariscos crudos, las frutas que se venden cortados en trozos, los productos elaborados con hielo como: helados, granizados y hielo raspado; las carnes y embutidos y los productos fritos (preparados en su mayoría con embutidos y otros productos cárnicos).²

Los alimentos listos para servir como el cebiche que es un alimento de consumo muy extendido en nuestro país, se elabora a partir de pescado crudo troceado al que se añaden verduras y jugo de limón. Habitualmente se prepara en servicios de alimentación, en los hogares e incluso en puestos de venta de los mercados o la vía pública³.

En el Perú los alimentos de venta callejera en la vía pública y mercados fueron considerados como uno de los posibles canales para la diseminación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs).⁴ Una gran cantidad de población piurana se ve en la necesidad de tomar los servicios de alimentación fuera del hogar acudiendo a puestos en la vía pública o mercados. Entre los mercados que dan servicio de alimentación se tiene al complejo de mercados y mercados zonales (San José, Santa Rosa y San Martín)⁵; como también al mercado minorista Las Capullanas ubicado en la carretera panamericana Norte.

Salmonella spp. y *Staphylococcus aureus* son algunos de los microorganismos patógenos implicados en las ETAs (Enfermedades Transmitidas por Alimentos). El crecimiento de estos microorganismos se produce al encontrar las condiciones adecuadas para crecer.⁶ Las *Salmonellas* son bacilos Gram negativos que pertenecen a la familia *ENTEROBACTERIACEAE*, existen más de 2200 tipos serológicos diferentes y la presencia de cualquiera de los serotipos de salmonelas en un alimento deberá ser considerado como peligro potencial. La puerta de entrada de las *Salmonellas*; lo mismo que de otros agentes de infecciones gastrointestinales es casi exclusivamente la vía oral. El microorganismo se trasmite principalmente por las heces del hombre y algunos animales. Prácticamente todos los alimentos de origen animal pueden ser vehículo de transmisión de *Salmonellas* al hombre. Los alimentos pueden contaminarse en cualquier fase de los procesos de manipulación, desde las materias primas a la preparación del alimento en la cocina. Los alimentos de mayor riesgo de contaminación por *Salmonella* son las carnes crudas, aves de corral, pescado, camarón, huevo, leche, productos lácteos, ensaladas, pasteles con relleno, mantequilla de cacahuete, cocoa, chocolate y el agua.⁶

Otro microorganismos causante de casos toxiinfecto - alimentarios es *Staphylococcus aureus*, es un coco Gram positivo anaerobio facultativo que produce fermentación láctica, es catalasa y coagulasa positivo. Esta bacteria se

puede encontrar en alimentos crudos, equipos o manipuladores y puede pasar a otros alimentos por contaminación cruzada, si bien necesita multiplicarse hasta alcanzar concentraciones de 10^5 ufc/g para producir la toxina y provocar la enfermedad. Este es un microorganismo ubicuo difícil de eliminar, que forma colonias en ambientes muy diversos; formando parte de la microbiota habitual de la piel, la garganta y las fosas nasales de sus hospedadores vertebrados. Su presencia en los alimentos se asocia directamente a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas.⁷

La presencia de estos microorganismos causantes de ETAs (Enfermedades Transmitidas por Alimentos), ha originado que se realicen diferentes trabajos de investigación para conocer la calidad microbiológica así como también la incidencia de los microorganismos en diversos alimentos. Rial y Varela (2008) manifiestan que incidencia hace referencia a los nuevos casos observados en un periodo de tiempo determinado y puede adquirir solamente un valor de entre 0 y 1.⁸

Trabajos de investigación muestran la presencia de *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*; así también la ausencia de estos microorganismos en cebiche. En la ciudad de Guadalajara - Jalisco – México; se analizaron 221 muestras de cebiche obteniendo que el 16% de las muestras analizadas resultaron positivas a *Salmonella spp.*⁹; en Costa Rica se analizaron 25 muestras de cebiche obteniendo 0 muestras positivas de *Salmonella spp.*¹⁰, en el Perú - Villa el Salvador se analizaron 75 muestras de comidas que contenían cebiche en las cuales no se aisló *Salmonella sp.*¹¹ y en Chile se obtuvo una incidencia de 0.4 para *Staphylococcus aureus* de 5 muestras de cebiche analizadas.¹²

El objetivo de esta investigación fue determinar la incidencia de *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* en cebiche de pescado expendido en establecimientos del mercado Las Capullanas y mercados zonales de Piura.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- POBLACIÓN EN ESTUDIO

Se analizaron 57 puestos de venta de cebiche procedentes de los mercados zonales San José, San Martín, Santa Rosa y el mercado las Capullanas.



Fig. 01. Ubicación del mercado las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

2.2.- OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se tomaron muestras de 57 puestos de una población de 59 puestos, para los cuales se realizaron 6 salidas (2 mensuales) en los mercados San José, Santa Rosa, San Martín y las Capullanas, donde se aplicó una encuesta a los expendedores de los mercados mencionados tomando en cuenta: el empleo de agua potable, la calidad y la higiene de utensilios, área de preparación de los alimentos, disposición higiénica de residuos, conservación de los alimentos y conocimientos básicos sobre la manipulación adecuada de alimentos.

De cada uno de los puestos se tomaron 200g de muestra¹³ de cebiche que fueron colocadas en 3 bolsas de 10g, 25g y 100g aproximadamente. Cada muestra fue colectada en bolsas plásticas de 15cm x 20cm de primer uso, cuyo sellado se realizó con cinta adhesiva gruesa para luego ser colocadas en bolsas de 20cm x 11cm con cierre hermético, previamente codificadas para una mayor estabilidad en el transporte y menos riesgo de derrame y contaminación.

2.2.1.- Identificación de las muestras

Las muestras fueron claramente identificadas mediante una codificación consignada con letra legible que presentaba los siguientes datos: N° de muestra, pescado utilizado, fecha y hora de la toma de muestra, pH, temperatura de la muestra *in situ* y temperatura del ambiente. La etiqueta fue colocada en el cierre de la bolsa para una mayor visibilidad al momento de analizar.

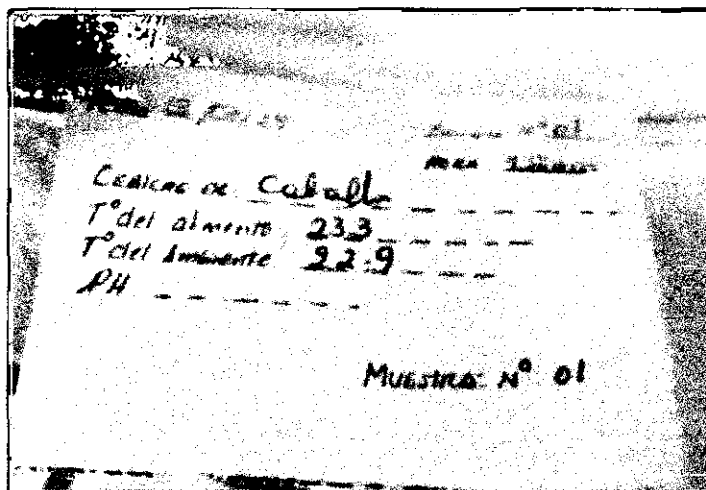


Fig. 02.- Etiquetas para la identificación de las muestras.

2.2.2.- Transporte de muestras

El transporte de las muestras se realizó en un cooler de 5 L de capacidad con refrigerantes, que mantuvieron las muestras a 4°C. Las muestras fueron transportadas al laboratorio de microbiología de La Universidad Nacional de Piura.



Fig. 03.- Transporte de muestras

2.3.- ANÁLISIS DE MUESTRAS

2.3.1.- Determinación del pH^{14,15}

Para la determinación del pH se utilizó la metodología: AOAC y la Norma Mexicana NMX-F-317-NORMEX-2013. Determinación del pH en alimentos y bebidas no alcohólicas – Método potenciométrico.

Se tomó la bolsa de 100g de muestra de cebiche colectada de cada puesto para la determinación del pH y se procedió a pesar los 100 g de cebiche (líquido y sólido) en una balanza analítica de 4 dígitos, luego se colocó la muestra en una licuadora agregando 10ml de agua destilada recientemente hervida, una vez obtenida la mezcla uniforme se procedió a colocarla en un frasco de primer uso de 200ml ajustando la temperatura a $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5$. Finalmente se sumergió el electrodo del pH metro portátil WTW en el frasco conteniendo la muestra, obteniendo de esta manera el valor del pH en la pantalla del potenciómetro.

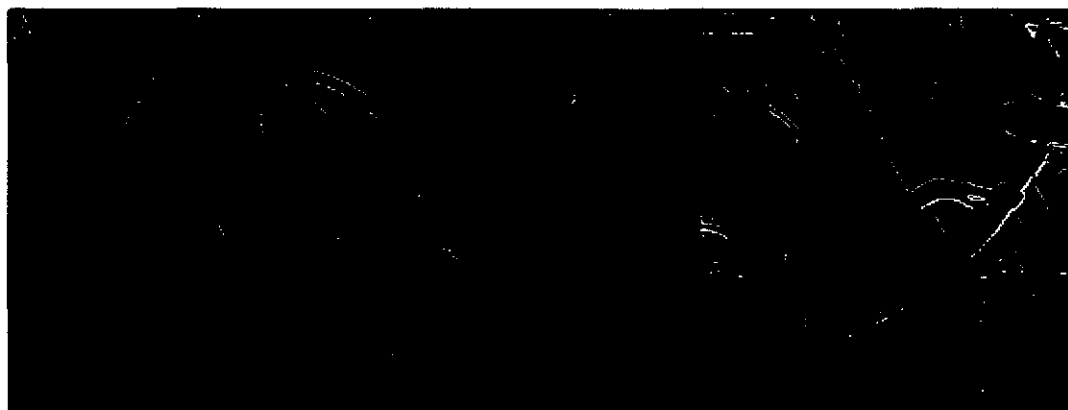


Fig.04.- Determinación del pH de las muestras.

2.3.2.- Determinación de la temperatura

Se realizó la medición de la temperatura del alimento (cebiche) con un termómetro digital; para ello se tomó una muestra independiente a las muestras utilizadas para el análisis microbiológico procediendo a medir la temperatura *in situ*. La temperatura del ambiente; se realizó colocando el termómetro en el área de cocina (zona de corte y preparación del alimento) de cada establecimiento. Los resultados obtenidos al medir la temperatura de la muestra y la temperatura del ambiente se colocaron en la etiqueta que presentaba cada bolsa de cierre hermético.

2.3.3.- Análisis Microbiológico

Para los análisis microbiológicos se utilizaron las cepas patrón: *Salmonella* entérica subsp. entérica serovar *typhimurium* ATCC 13311 y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632.

2.3.3.1.- Análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus*¹⁶

- Se realizó el método de recuento en placa y siembra en superficie utilizando agar Baird Parker, para el cual se pesó 10g de muestra asépticamente y se colocó en un vaso estéril para licuar, se agregó 90ml de solución salina peptonada al 0.1% por 1 minuto. Una vez licuado se colocó en un frasco estéril de 250ml y se procedió a preparar las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .
- Se transfirió 0.1ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} a la superficie de placas con Agar Baird Parker y se extendió el inóculo con una espátula Driglasky, posteriormente se llevó a incubar de forma invertida a 37°C por 48 horas.
- Pasado el tiempo de incubación se eligió las placas con colonias sospechosas de ser *S. aureus*: colonias negras y brillantes, de margen estrecho y blanco, rodeadas de áreas claras y que se extienden en el medio opaco. Dichas colonias se inocularon en agar nutritivo.

2.3.3.1.2.- Pruebas complementarias ^{16,17}

Las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker fueron inoculadas en frascos de 5ml estériles con agar nutritivo y fueron incubadas a 37°C por 24 horas.

Coloración Gram ¹⁷: Se tomó una pequeña cantidad de muestra con un asa de kolle cerca de un mechero, la muestra se colocó en una lámina portaobjetos limpio agregando una gota de agua destilada estéril, se fijó la muestra pasándola rápidamente por encima de la llama de un mechero. Fijada la muestra se cubrió con solución cristal violeta por 1 minuto aproximadamente, se lavó con agua, se agregó lugol dejando actuar por 1 a 3 minutos, se lavó y procedió a decolorar con alcohol acetona hasta que

ya no se desprendió colorante de la lámina, se volvió a lavar y se contrasto con safranina por 30 segundos finalmente se lavó, seco y se observó a inmersión agregando aceite de cedro.

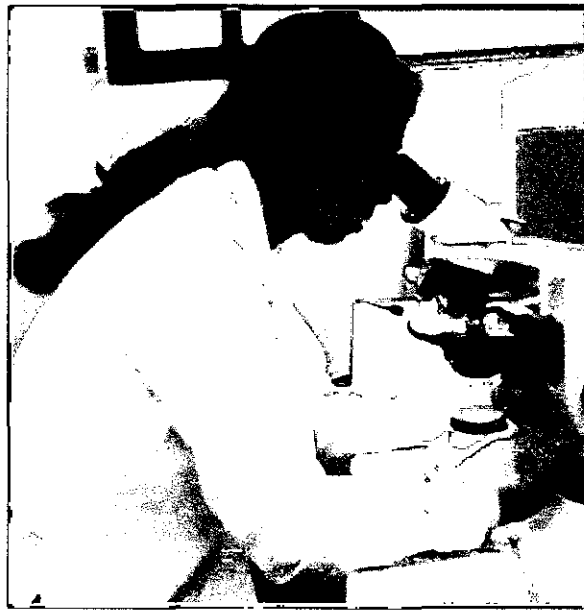


Fig.05.- Observación de láminas portaobjetos coloración de Gram.

Prueba de catalasa¹⁷: Se colocó una fracción del crecimiento bacteriano sobre un portaobjetos limpio, se cubrió con algunas gotas de H_2O_2 , observando el desprendimiento gaseoso (burbujas) indicando prueba catalasa positiva.

Prueba de la coagulasa¹⁶: Del agar nutritivo se tomó una de las colonias sospechosas de *S. aureus* y se inoculó en caldo infusión cerebro corazón incubando a $35-37^{\circ}C$ de 20- 24 horas. Luego se tomó 0.1ml de los cultivos y se colocaron en tubos estériles conteniendo 0.3ml de Bactident® Coagulase posteriormente se incubo a $37^{\circ}C$. Se examinó los tubos a las 4 horas con el fin de detectar la presencia de coágulos; al no observar, los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente y se volvió a realizar la lectura a las 24 horas. La aparición de un coágulo bien definido indicativo de la actividad de la coagulasa.

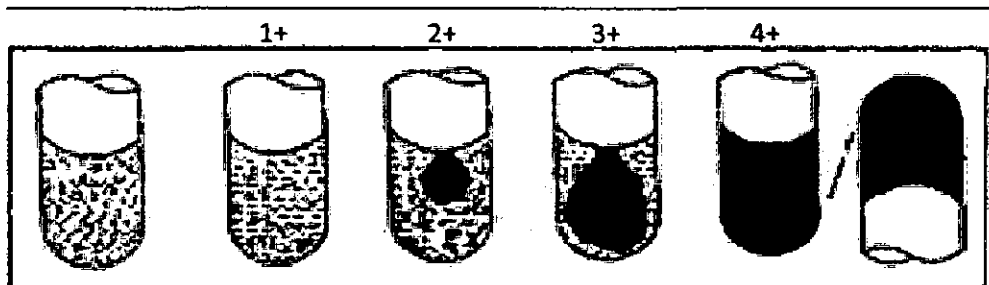


Fig.06.- Esquema de las reacciones en la prueba de la coagulasa¹⁶

- Negativo (-) no se observa evidencia de la formación de la fibrina.
- 1+ aparecen coágulos muy pequeños desorganizados.
- 2+ aparece un coágulo pequeño organizado.
- 3+ aparece un gran coágulo organizado.
- 4+ aparece coagulado en todo el contenido, el coágulo se mantiene aun cuando se invierte el tubo.

Prueba DNAsa¹⁶: Se tomó una fracción de colonias del agar nutritivo y se procedió a sembrar en placas Petri con agar DNAsa, luego se llevó a incubar a 37°C por 24 horas, pasado el tiempo de incubación se procedió a recubrir las placas con HCl [1N], observando halos de aclaramiento alrededor de las colonias

Prueba de Manitol¹⁷: Se tomó una fracción de colonias del agar nutritivo y se procedió a sembrar en placas Petri con agar manitol salado, luego se llevó a incubar a 37°C por 24 horas, observando halos amarillos alrededor de las colonias.

2.3.3.2.- Análisis microbiológico de *Salmonella spp.*¹⁷

Para el análisis correspondiente de *Salmonella spp.* se utilizó el método de presencia/ausencia.

- ✓ Enriquecimiento previo de *Salmonella spp.*¹⁷
 - Se pesó asépticamente 25g de muestra (cebiche) en un recipiente para licuar estéril, se agregó 225ml de agua peptonada tamponada estéril y se licuo por 2 minutos, se transfirió asépticamente la mezcla homogenizada en un frasco de 500ml estéril, se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente y luego se incubó a 37°C por 24 horas.
- ✓ Enriquecimiento selectivo de *Salmonella spp.*¹⁷
 - Se agitó suavemente la mezcla incubada; se transfirió 1ml de la mezcla a 10ml de caldo Selenito-Cistina (SC) y 0.1ml de mezcla a caldo Rappaport – Vasialiadis (RV), se incubó el caldo SC a 24±2h a 35°C, y el medio de RV por 24±2h a 43°C en Baño María.
- ✓ Siembra en placa en medios de agar selectivo para *Salmonella spp.*¹⁷
 - Se procedió a sembrar por agotamiento y estría con un asa de Kolle de caldo SC y RV en medios de aislamiento selectivo XLD y agar SS, se incubó las placas a 37°C por 24±2 horas. Pasado el tiempo de incubación se observó crecimiento de colonias rosadas con o sin centro negro. Las colonias sospechosas se colocaron en agar nutritivo.

2.3.3.2.1- Bioquímica para *Salmonella spp.*¹⁷

Prueba de TSI (agar hierro tres azúcares)¹⁷: Se inocularon por picadura central profunda y por estría en superficie las colonias sospechosas de *Salmonella sp.* en tubos con agar TSI, luego se incubaron a 37°C por 24 horas, pasado el tiempo de incubación se realizaron las lecturas de los medios. *Salmonella* produce ennegrecimiento del medio, producción de gas,

fermentación de glucosa (coloración amarilla en el fondo del tubo) y no hay fermentación de lactosa o sacarosa (coloración roja en la estría).¹⁹

Prueba de citrato de SIMMONS¹⁷: Las colonias sospechosas de *Salmonella sp* fueron sembradas en la superficie de tubos con agar citrato de SIMMONS, incubando a 37°C por 24 horas, transcurrido el tiempo de incubación se observó el viraje del verde al azul.

Prueba de LIA (Lisina hierro)¹⁷: Se inocularon por picadura central profunda y por estría en superficie en tubos con agar LIA las cepas sospechosas de *Salmonella sp.* se incubaron a 37°C por 24 horas, luego se observó los resultados obtenidos. La especie de *Salmonella* causa la reacción alcalina indicada por el color púrpura en todas partes del medio y la formación de SH₂. La prueba negativa es indicada por el color amarillo en todas partes del medio.²⁰

Prueba de Motilidad¹⁷: Se inoculó las cepas sospechosas en medio SIM (agar semisólido) por punción, se incubó a 37°C por 24 horas observando el desplazamiento del microorganismo a través del medio.

Prueba de Indol¹⁷: Se inoculó las cepas sospechosas en medio SIM (agar semisólido) por punción, se incubó a 37°C por 24 horas, pasado el tiempo de incubación se agregó 0.5 ml de reactivo de Kovacs, observando la formación de un anillo rojo para indol positivo.

Prueba de Rojo de metilo (RM)¹⁷: Se inoculó tubos con caldo RM-VP con las cepas sospechosas y se incubó a 37°C por 72 horas. Pasado el tiempo se procedió añadir 5 gotas del reactivo de rojo de metilo y se agito. Se denominó prueba positiva al aparecer un color rojo bien definido y como negativo si el color es amarillo.

Prueba de Vogues Proskauer (VP)¹⁷: Se inoculó tubos con caldo MR-VP con cultivos de las colonias sospechosas e incubó a 37°C por 72 horas. Pasado el tiempo de incubación se añadió 0.6ml de solución α naftol y 0.2ml de KOH, se agitó los tubos y se dejó reposar. La aparición en la mezcla de un color rosa carmesí se denomina prueba positiva.

Prueba Serológica¹⁷: Las colonias sospechosas de ser *Salmonella spp.* fueron enviadas al Instituto Nacional de la Salud para su confirmación serológica. Utilizando la Técnica para la reacción con el antisuero polivalente O (somático) en placa. Para ello se diluyó y ensayo primeramente los antisueros con cultivos testigos conocidos para garantizar la eficacia de la prueba, cuando se realizó con los cultivos problema se marcaron con un lápiz de cera dos secciones alrededor de 1 × 2 cm sobre la cara interna de una placa de Petri de vidrio o sobre un portaobjetos de 5x7,5cm. Se depositó una pequeña cantidad (un asa) de un cultivo en agar nutritivo o en agar triple azúcar hierro inclinado de 24-48 horas directamente sobre una placa o portaobjetos. Se agregó una gota de una solución de NaCl al 0.85% en la parte inferior de cada sección marcada. Al emulsionar el cultivo en la solución salina con un asa o aguja de inoculación limpia y estéril en una sección y repetir lo mismo en la otra sección. Se añadió una gota de antisuero *Salmonella* polivalente O a una de las secciones y se observó sobre fondo oscuro, en caso de reacción positiva se producirá una aglutinación rápida e intensa. Se clasificó la reacción de la siguiente manera:

Positiva: Cuando hay aglutinación en la mezcla cultivo-solución salina-suero y no en la mezcla cultivo-solución salina.

Negativa: Cuando no hay aglutinación en la mezcla cultivo-solución salina-suero. Estos cultivos deberán ensayarse también frente al antisuero polivalente H (flagelar).

No específica: cuando ambas mezclas presentan aglutinación. Este resultado requiere nuevos ensayos.

Las cepas bacterianas aisladas de las muestras fueron enviadas al Instituto Nacional de la Salud para su confirmación - identificación.

III.- RESULTADOS

3.1.- DETERMINACION DE pH y TEMPERATURA (T°)

El pH de las 57 muestras osciló entre 5.45 máx., 3.58 min y una moda de 4.52, la temperatura en °C de cada una de las muestras osciló entre 28.7°C máx. y 18.3°C min y la moda de 23.5°C y la temperatura del ambiente de 33.3°C máx. y 21.7°C min. y la moda de 27.5°C.

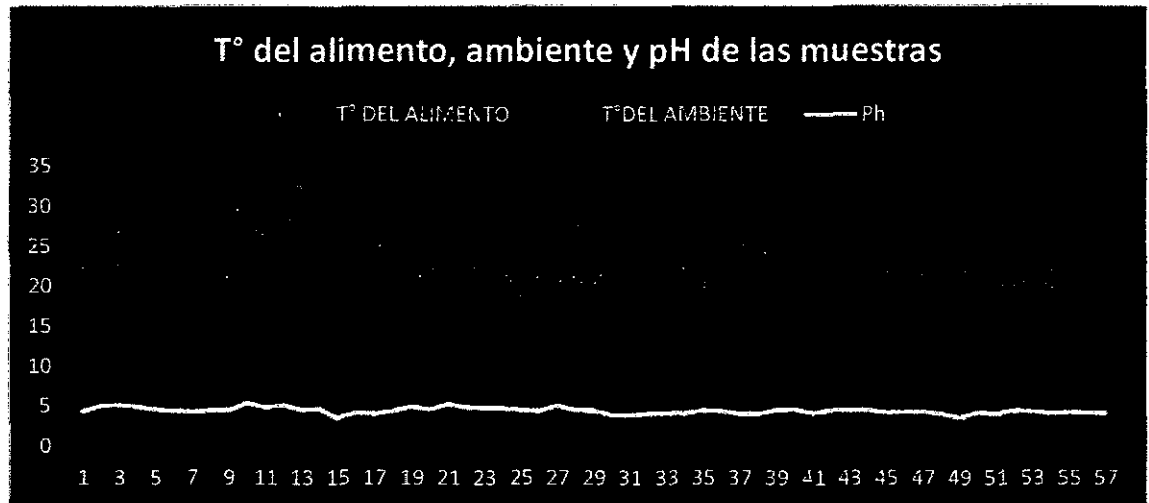


Fig. 07.- Temperatura del producto, ambiente y pH de las 57 muestras analizadas en los mercados las Capullanas y zonales de Piura.

3.2.- ENCUESTA A MANIPULADORES O VENDEDORES

De las 57 encuestas realizadas a los expendedores de los mercados las Capullanas y mercados zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José), se encontró que el 86% se abastece de agua en la red pública, el 14% de agua llevada en baldes y ningún puesto utiliza agua de pozo o agua de mesa (agua embotellada). Con respecto a la forma de evacuación del agua sucia de cada uno de los puestos, el 86% presenta red de desagüe y el 14% almacena en baldes. La forma de almacenamiento de residuos sólidos en los puestos de los mercados las Capullanas y mercados zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José) el 53.63% almacena la basura en baldes, el 33.33% lo almacena en bolsas y el 52.63% almacena en baldes con bolsas.

Se observó que en los puestos de los mercados las Capullanas y mercados zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José) el 91% de los puestos se encontraba limpio y el 9% con residuos de comida (sucios).

Los puestos de los mercados las Capullanas y zonales de Piura (Santa Rosa, San José y San Martín) mostraron que el 96% de los puestos presentaba sus utensilios limpios y el 4% los presentaban sucios.

Así también la encuesta mostró que el 58% de los expendedores presenta solo mandil y el 42% de los expendedores no presenta indumentaria (mandil, toca y tapaboca).

Con respecto al número de comensales que asiste a cada uno de los puestos, el 71.93% atiende a menos de 10 comensales, el 10.53% de 10-20 comensales, el 12.28% de 20-30 comensales y el 5.26% de 30-50 comensales.

Las encuestas realizadas a los expendedores de los mercados las Capullanas y mercados zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José) mostró que el 77% utiliza pescado fresco y el 23% refrigerado.

De las 57 encuestas realizadas el 70.18% exhibe el cebiche en fuentes y el 29.82% lo prepara al instante.

Los resultados de las 57 encuestas realizadas a los expendedores de los mercados las Capullanas y mercados zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José) mostró que el 68.42% de expendedores ha recibido capacitaciones de manipulación de alimentos y el 31.58% de expendedores no ha recibido capacitación de manipulación de alimentos.

Con respecto al lavado de manos se obtuvo que el 75.44% se lava las manos 3 veces, el 14.04% se lava las manos 2 veces, el 7.02% una vez y el 3.51% no se lava las manos al utilizar los SS.HH.

3.3.- ANALISIS MICROBIOLOGICOS DE *Staphylococcus aureus*

De las 54 muestras analizadas de cebiche solo en 3 muestras se observó el crecimiento de colonias en Agar Baird Parker que presentaban semejanza con el crecimiento de las colonias de la cepa patrón *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 11632, a dichas colonias se les realizo las pruebas complementarias, con respecto a las pruebas bioquímicas se presume que las cepas sospechosas serian *Staphylococcus epidermidis*.

3.4.- ANALISIS MICROBIOLOGICOS DE *Salmonella sp.*

De las 54 muestras analizadas 3 muestras presentaron el crecimiento de colonias en agar XLD y SS semejantes a la cepa patrón *Salmonella entérica subsp. entérica serovar typhimurium* ATCC 13311, realizándose las pruebas bioquímicas respectivas.

Con respecto a las pruebas bioquímicas se presume que las cepas sospechosas m₃/19-05-14 seria *Proteus spp*, m₁/25-06-14 y m₃/07-07-14 *Citrobacter spp*. La confirmación - identificación de las cepas se realizó en el Instituto Nacional de la Salud.

3.5.- INCIDENCIA DE *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*

Se analizaron 57 muestras de los mercados: las Capullanas y los mercados zonales (San Martín, Santa Rosa y San José). Las muestras correspondían a: 4 del mercado San Martín, 5 del mercado Santa Rosa, 9 del mercado San José y 39 del mercado las Capullanas, no se detectó en las muestras la presencia de *Salmonella spp.* ni de *Staphylococcus aureus*, obteniendo así una incidencia 0.0 de ambos microorganismos.

Tabla 01.- Incidencia de *Staphylococcus aureus* en muestras de cebiche de los puestos del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

MERCADO	Unidad muestral	Presencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	INCIDENCIA
San Martín	4	0	
Santa Rosa	5	0	
San José	9	0	
Las Capullanas	39	0	
Total	57	0	0.0

Tabla 02.- Incidencia de *Salmonella spp.* en muestras de cebiche de los puestos del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

MERCADO	Unidad muestral	Presencia de <i>Salmonella sp.</i>	INCIDENCIA
San Martín	4	0	
Santa Rosa	5	0	
San José	9	0	
Las Capullanas	39	0	
Total	57	0	0.0

IV. DISCUSION

Koneman et al (2006) afirma que la temperatura de desarrollo para *Salmonella sp* es de 5 a 47°C (óptimo 35–37°C) y se desarrollan a pH entre 4 – 9 (óptimo 6.5 - 7.5); así también Gil & Ruiz (2010) dan a conocer que *Staphylococcus aureus* crece de 7–48 °C (optimo 37°C) y pH 4,0–9,3 (optimo 7,0–7.5). En la presente investigación se obtuvo que los valores del pH en las muestras de cebiche de los mercados las Capullanas y zonales de Piura, oscilaron entre 5.45 máx. 3.58 mín. y una moda de 4.5 (la moda identifica el valor que más se repite⁸); la temperatura de las muestras oscilo entre 28.7°C máx. 18.3°C mín. siendo la moda de 23.5°C y la temperatura del ambiente de 33.3°C máx. 21.7°C mín. siendo la moda de 27.5°C. Observando que 4.5 es el valor que presentan mayor cantidad de muestras, encontrándose por encima del valor mínimo en cuanto al pH y el valor de la moda en cuanto a temperatura del ambiente y del alimento se encuentra cerca al valor optimo en cuanto a la temperatura de crecimiento tanto para *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*.

Arambulo et al (1995) manifiesta que desde el punto de vista de la sanidad en general los puestos ambulantes y mercados rara vez tienen acceso a agua corriente inocua para cocinar, lavar utensilios y cubiertos, además de una eliminación inadecuada de las aguas residuales y residuos sólidos que incrementan el potencial de transmisión de enfermedades microbianas. Los resultados obtenidos en la encuesta muestran que el 85.96% se abastece de agua a través de la red pública y el 14.04% (8/57) a través de baldes; en la evacuación de aguas sucias el 85.96% (49/57) puestos si presentan red de desagüe y el 14.04% (8/57) almacena el agua sucia en baldes; los residuos sólidos colectados en los puestos es colocada en baldes por el 52.63%(30/57), en bolsas por el 33.33%(19/57) y en bolsas dentro de baldes por el 8.77% (5/57). Otro de los puntos tomados en la encuesta es el aspecto general de limpieza del puesto obteniendo que el 91.23%(52/57) presentaba sus puestos limpios y el 8.77%(5/57) se encontraron sucios y en la limpieza de los utensilios encontramos que el 96.49%(55/57) presentaba sus utensilios limpios y al 3.51%(2/57) presento sus utensilios con rastros de comida (sucios). Se puede apreciar que las condiciones sanitarias no son deprimentes que favorezcan la contaminación con patógenos.

Segura & Varo (2009) en su libro “Manipulador de Comidas preparadas” nos muestra que uno de los elementos claves para alcanzar los **objetivos de la higiene** de los alimentos es el personal manipulador, porque **puede contaminar los alimentos** o transmitirles ciertas enfermedades por **malas prácticas higiénicas** durante su actividad laboral en las distintas fases de: obtención, almacenamiento, transporte, preparación, transformación, cocinado y servido de los alimentos al consumidor final. Esto se puede prevenir sobre todo a través de la formación y educación sanitaria de los manipuladores de alimentos mediante cursos. La encuesta realizada a los expendedores nos mostró que el 56.65%(57) presentaba indumentaria (mandil) y el 40.35%(57) no presento ningún tipo de indumentaria; con respecto a los cursos recibidos de educación sanitaria y manipulación de alimentos el 64.42%(39/57) expendedores no han recibido cursos o charlas de manipulación de alimentos y un 31.58%(18/57) si han recibido curso o charlas de manipulación de alimentos. Un porcentaje mayor expendedores presenta una formación y educación sanitaria lo que disminuiría el riesgo de contaminación de los alimentos por microorganismos patógenos a través de la manipulación.

Caballero et al (1998) manifiestan que las medidas para evitar la presencia de microorganismos en los alimentos están, entre otros, en relación con el lavado correcto y oportuno de las manos; así también Arambulo et al (1995) manifiestan que la falta de retretes o lavaderos disponibles, obligan a los manipuladores (y a veces a los consumidores) a usar cualquier área cercana sin lavarse después las manos como es debido. Los resultados obtenidos en la encuesta realizada en los mercados las Capullanas y zonales de Piura con respecto al lavado de manos después de utilizar los SS.HH muestra que el 75.44%(43/57) expendedores se lava las manos de 3 a más veces, el 14.04%(8/57) expendedores solo 2 veces, el 7.02%(4/57) expendedores solo se lava una vez y el 3.51% (2/57) expendedores no se lava las manos al momento de usar los servicios higiénicos, observando que existe un reducido número de expendedores que no conoce la importancia del lavado de manos para evitar la presencia de microorganismos en los alimentos y que pueden originar el riesgo de contaminación de los alimentos por microorganismos.

Hernández (2002) manifiesta que *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva, que presenta una enzima termostable (coagulasa) que permite diferenciar las especies del genero *Staphylococcus*.²⁶ El Instituto de la Salud (2002) da a conocer que la actividad de la DNAsa se utiliza sobre todo para determinar y confirmar las cepas patógenas potenciales de *S. aureus* sub esp. *aureus* y para diferenciar a *S. aureus* de *S. epidermidis*. *S. aureus* fermenta el manitol y produce colonias de halo amarillo, lo que las diferencia de *S. epidermidis* y otras especies coagulasa negativa.²³ Los resultados obtenidos en los análisis realizados muestran que la cepa patrón *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632 presento las características mencionadas en cada una de las pruebas semejantes a *Staphylococcus*, a diferencia de las colonias sospechosas M₁(07/07/14), M₃(07/07/14) y M₃/19-05-14 que presentaron resultados diferentes a los de *Staphylococcus aureus*.

Salmonella es un bacilo en forma de bastoncillo, negativa a la tinción Gram. (USDA, 2011). Muchas especies de *Salmonella* en agar xilosa-lisina-desoxicolato forman colonias rojas, la mayoría con centro negro por el gas H₂S.²⁸ Alarcón (2001) nos da a conocer que la reacción de *Salmonella spp.* en TSI produce ennegrecimiento del medio, fermentación de glucosa en el fondo y producción de gas. Las bacterias del grupo *Proteus* y *Providencia* desaminan la lisina a ácido α -cetocarbónico que forma compuestos pardo-rojizos diferenciándola de *Salmonella*.³¹ Arechua & Moya (2004) mencionan que el citrato permite diferenciar a las enterobacterias así tenemos a las citrato negativas: *Escherichia* y *Shigella*; entre las citrato positivas *Arizona*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Serratia*. La mayoría de *Salmonellas* no producen indol.³³ *Proteus mirabilis* y *P. penneri* son indol negativo y *P. vulgaris* indol positivo.²⁶ Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que la cepa patrón *Salmonella entérica* subsp. *Entérica* serovar *typhimurium*. ATCC 13311 presento los resultados correspondientes de *Salmonella*, a diferencia de M₁: m3/19-05, M₃: m1/25-06 y M₄:m3/07-07 que presentaron resultados diferentes con respecto a *Salmonella sp.* en cada una de las pruebas bioquímicas realizadas.

En la reciente investigación realizada en los mercados Las Capullanas y zonales de Piura (Santa Rosa, San Martín y San José), ninguna de las 57 muestras de cebiche analizadas presentó *Salmonella sp.* Obteniendo una incidencia 0.0% resultado que se asemeja a los resultados obtenidos por Quispe & Sánchez (2001) en el distrito de Comas, Lima donde se analizaron 17 muestras de cebiche no encontrando *Salmonella spp.* en las muestras evaluadas y por Arechua & Moya (2004) en Villa el Salvador que analizaron 16 muestras que contenían cebiche donde obtuvieron ausencia de *Salmonella spp.* Y difiere del obtenido en Lima por la OPS (1996) en puestos de venta en la calle, donde se obtuvo una incidencia de 0.027 en (2/74) muestras de cebiche debido a las condiciones higiénicas deficientes en que se expenden este producto y los hábitos de vendedores y consumidores.

En los análisis microbiológicos realizados para *Staphylococcus aureus* en las 57 muestras de cebiche expendido en los mercados Las Capullanas y zonales (Santa Rosa, San Martín y San José) de Piura, se obtuvo una incidencia 0.0%, dicho resultado coincide con los obtenidos por la OPS (1996) quienes analizaron 74 muestras de cebiche pertenecientes de la ciudad de Lima donde no se encontró *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas; por el contrario Riquelme (2007) evaluó la incidencia de *S. aureus* en platos de la sección cocina en Chile donde se analizaron 5 muestras de cebiche de las cuales el 0.4% (2/5) muestras fueron positivas para *Staphylococcus aureus*, esto ocurrió por la falta de utensilios originando una contaminación cruzada.

Robles (2010) manifiesta que el extracto de jugo de limón presenta ácido cítrico principal determinante de la acidez, posee un efecto germicida mayor que el del ácido láctico²³ e inhibe del crecimiento de *S. typhi*, *S. typhimurium* in vitro mostrando halos de inhibición mayores a 1 cm. Así también García y Herrera (2007) evaluaron el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa* sobre cinco cepas bacterianas patógenas de relevancia en la industria alimentaria, como son: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Salmonella spp.* *A. cepa* presenta queracetina que posee un buen efecto antibacteriano sobre las cinco cepas ensayadas. Koffi et al (2010) determinaron el efecto de *Capsicum annum* y *Capsicum frutescen* y extractos acuosos de bacterias seleccionadas (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Escherichia coli y *Shigella dysenteriae*) fueron investigados. Se encontró que ambos extractos fueron eficaces contra *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella typhimurium*. El extracto de *Capsicum annuum* contienen compuestos fenólicos que poseen una amplia actividad antibacteriana, antiviral o antifúngica más alta que la de *Capsicum frutescens*. Con respecto a lo manifestado por los autores se puede presumir que los ingredientes presentes en el cebiche: limón (*Citrus limón*), la cebolla (*Allium cepa*) y el ají (*Capsicum annuum*) presentaron actividad antibacteriana con respecto a *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* lo que explicaría la ausencia de estas bacterias, a pesar de los riesgos de contaminación a que son sometidos estos alimentos.

V. CONCLUSIONES

- La incidencia de *Salmonella spp.* en cebiche de pescado expendido en 57 establecimientos del mercado las Capullanas y mercados zonales de Piura mediante el método de presencia / ausencia fue de 0%.
- La incidencia de *Staphylococcus aureus* en cebiche de pescado expendido en 57 establecimientos del mercado las Capullanas y mercados zonales de Piura mediante el método de recuento en placa y siembra en superficie fue de 0%.
- Las condiciones intrínsecas (pH y sustancias antimicrobianas) del cebiche de pescado del mercado las Capullanas y mercados zonales de Piura son desfavorables para sostener el crecimiento de los microorganismos patógenos *Samonella* y *Staphylococcus aureus*.

VI. RECOMENDACIONES

- Incentivar a realizar estudios sobre la calidad microbiológica del cebiche y conocer de esta manera el riesgo de transmisión de ETAs (Enfermedades Transmitidas por los Alimentos).
- Establecer un programa de vigilancia a puestos de comida de los mercados y puestos callejeros, para evitar la propagación de ETAs (Enfermedades Transmitidas por los Alimentos) en los comensales.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Food and Agriculture Organization. Buenas prácticas de higiene en la preparación y venta de alimentos en la vía pública en américa latina y el caribe: Herramientas para la capacitación. Roma [Italia]; 2009. [Citado el 20 de Noviembre del 2014]. Disponible en: https://www.assal.gov.ar/assa/documentacion/Manual_BP_Higiene_manufactura.pdf
2. Arambulo III, Claudia R, Cuellar J y Albino J. La venta de alimentos en la vía pública en América Latina. Bol. Oficina Sanit Panam. [internet]. 1995. [Citado el 20 de Enero del 2014]; 118(2). 11p. Disponible en: <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v118n2p97.pdf>
3. Briano NP. Calidad sanitaria de ceviche de pescado que se expende en la ciudad de Guadalajara. [Tesis]. Guadalajara: Universidad de Guadalajara. Facultad de Ciencias; 1989. [Citado el 28 de Febrero del 2014] Disponible en: http://biblioteca.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2422/Briano_Posada_Ninfa.pdf?sequence=1
4. Costarrica M.L y Morón M. Estrategias para el mejoramiento de la calidad de los alimentos callejeros en America Latina y el Caribe: FDA; 1996. [Citado el 28 de Febrero del 2013] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w3699t/w3699t08.htm#TopOfPage>.
5. Mandragon, R y Carmen. E. Determinación de las causas y diagnóstico del comercio informal de Piura [Tesis]. Piura: Universidad de Piura. Facultad de Economía; 2007. [Citado el 28 de Febrero del 2013] Disponible en: http://www.biblioteca.udep.edu.pe/BibVirUDEP/tesis/pdf/1_116_43_74_1077.pdf

6. Fuentes AF, Campos ON, Meza M. Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón, Sonora, Mexico. Rev. Fac. salud. Pub. Nutrición. 2005; 6(3). [Citado 10 de setiembre del 2013] Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/vi/3/articulos/calidad_sanitaria.htm
7. Figueroa GG, Navarrete WP, Caro CM, Troncos HM, Faúndez ZG. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. Rev. Méd. Chile. 2002; 130(8): 859-864. [Citado 10 de setiembre del 2013] Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872002000800003
8. Rial A & Varela J. Estadística práctica para la investigación en ciencias de la salud [libro electrónico]. La Coruña [España]: Gesbiblo, S.L; 2008 [Citado el 20 de Noviembre del 2014] Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?id=5KdXV7lxHIEC&pg=PA300&dq=que+es+incidencia+%28estadística%29&hl=es-419&sa=X&ei=tkRuVPbrOoufgwTV0oFA&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=que%20es%20incidencia%20%28estadística%29&f=false>
9. Fernández E, Torres MR. Contaminación del ceviche de pescado por *Salmonella* en Guadalajara, Jalisco, México. Bol oficina sanit panam. 1996;120(3).198-203. [Citado 10 de setiembre del 2013] Disponible en: <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v120n3p198.pdf>
10. Arias M y Chaves C. Calidad microbiológica de la materia prima y el producto final del ceviche de tilapia y de camarón expendidos en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica. [Tesis]. Costa Rica. 2012. [Citado el 20 setiembre de 2013]. Disponible en:

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:itrQe-4rF_sJ:investiga.uned.ac.cr/revistas/index.php/cuadernos/article/view/136/28+&cd=3&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe

11. Arechua DJ & Moya VC. Evaluación de riesgos microbianos en alimentos preparados, consumidos en la población de Villa el Salvador. Peligro, Salmonella spp. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2004;[citado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/184/1/arechua_dj.pdf
12. Riquelme LF. Incidencia de Staphylococcus aureus en platos fríos listos para el consumo en locales de comida italiana para su control. [Tesis]. Santiago. 2007. [Citado el 20 setiembre de 2013]. Disponible en: http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2007/riquelme_l/sources/riquelme_l.pdf
13. Directiva sanitaria N°032- MINSA- DIGESA- V01. Procedimiento para la recepción de muestras de alimentos y bebidas de consumo humano en el laboratorio de Control Ambiental de la dirección general de salud ambiental del Ministerio de Salud. Dirección Regional de Salud Ambiental. Lima, Perú. 2011.
14. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis 12ª ed, 1975.
15. Dirección General de Normas Mexicanas. Determinación del pH en alimentos y bebidas no alcohólicas – Método potencio métrico – Método de prueba. 2013. [Citado el 02 Octubre del 2013]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S 1978.PD>.
16. Food and drug administration (FDA). Manual analítico bacteriológico. 2011. (Citado el 28 de Febrero del 2013) Disponible en URL: <http://www.fao.org/docrep/W3699T/W3699T00.htm>.

17. Manual DIGESA. Manual de análisis microbiológicos de alimentos. Dirección general de salud ambiental. 2001. [Citado el 20 de Enero del 2014] Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf
18. Segura BM & Varo GO. Manipulador de comidas preparadas [Libro electrónico]. España: Club universitario; 2009. [Consultado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?hl=en&lr=&id=aeZINbP4nFYC&oi=fnd&pg=PA7&dq=microorganismos+presentes+en+ceviche&ots=FOOmX6qdrD&sig=9DG9INbgExKWpkLZJMBmgii9Fjs#v=onepage&q=microorganismos%20presentes%20en%20ceviche&f=false>
19. Alarcón L. Manual de prácticas microbiológicas básica y microbiología de alimentos. Programa de nutrición. 2001.
20. Caffer MI, Terragno R & Binsztein N. Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de Salmonella spp. 2008. Departamento de Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. [Consultado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://bvs.panalimentos.org/local/File/manual_salmonella_2008.pdf
21. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenber PC & Winn WC. Koneman Diagnostico microbiológico texto y atlas a color, 6ta ed. Buenos Aires, Argentina; Médica Panamericana; 2006.
22. Gil A & Ruiz LM. Tratado de Nutrición, 2da ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010. [Citado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT689&dq=la+temperatura+y+el+pH+optimo+de+Staphylococcus+aureus&hl=es-419&sa=X&ei=pwUNVPXhHarbsASd8IKACQ&ved=0CCYQ6AEwAg#v>

=onepage&q=la%20temperatura%20y%20el%20pH%20optimo%20de%20Staphylococcus%20aureus&f=false

23. Fernández EE & Torres RV. Contaminación del ceviche de pescado por Salmonella en Guadalajara, Jalisco, México. Bol. Oficina Sanit. Panam. 1996 [Citado el 28 de Noviembre del 2014] 120(3). Disponible en URL: <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v120n3p198.pdf>
24. Caballero A, Carrera JA, Legomin ME. Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. Rev Cubana Aliment Nutr. 1998; [Citado el 28 de Febrero del 2013] 12 (1): 3p. Disponible en URL: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_1_98/ali01198.pdf
25. Hernández F. Fundamentos epidemiológicos: el arte detectivesco de la investigación. San Jose, Costa Rica; Universidad estatal a distancia; 2002. [Citado el 07 de Noviembre del 2014] Disponible en URL: http://books.google.com.pe/books?id=vu7xOb6X_qkC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
26. Rodríguez E, Badiola J, Cepeda A, Domínguez L, Otero A., Zurera G. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la evisceración de los lagomorfos. Rev. Com. Cient. AESAN (Madrid).2002; 9(2): 31-38.
27. Instituto de Salud Pública, Procedimiento detección de Salmonella en alimentos método convencional. Santiago de Chile; 2002. [Citado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/03/PRT-712.02-012-V%206%20deteccion%20Salmonella.pdf
28. Tortora G, Berdell R & Cose Ch. Microbiología. 9º ed. Buenos Aires, Argentina; 2007. [Citado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en:

<http://translate.google.com.pe/translate?hl=es-419&sl=en&u=http://books.google.com.pe/books%3Fid%3Dq55ruAAACA-AJ%26dq%3Dtortora%2Bmicrobiology&prev=search>

29. Departamento de agricultura de los Estados Unidos (USDA). Información sobre inocuidad de los alimentos. 2011. [Citado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/fe5220a4-4568-4c33-b147-5c998750c381/Spanish_Salmonella_Preguntas_y_Repuestas.pdf?MOD=AJPERES
30. Alarcon L. Manual de prácticas microbiológicas básica y microbiología de alimentos. Programa de nutrición. 2001.
31. Caffer MI, Terragno R & Binsztein N. Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de Salmonella spp. 2008. Departamento de Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. [Consultado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://bvs.panalimentos.org/local/File/manual_salmonella_2008.pdf
32. Macfaddin FJ. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3era ed. Montevideo. Médica Panamericana; 2003. [Consultado el 07 de setiembre del 2014] Disponible en: http://books.google.com.pe/books?id=FYWSzy7EjR0C&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
33. Kooffi R N, Clement K K, Yesse NZ, Kousseman H & Yao GL. Antibacterial Activity of two bell pepper extracts: Capsicum annum and Capsicum frutescens. International journal of food properties; 2010. 15(5). [Consultado el 18 de Octubre del 2014]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10942912.2010.509896#.VEKkYRbKNNM>

34. Quispe MJ & Sánchez PV. Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima – Perú. Revista Peruana de Medicina experimental y salud pública [Revista en internet]. 2001[Citado el 07 de setiembre del 2014];18(1-2): Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342001000100007&script=sci_arttext
35. Organización Panamericana de la Salud. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de américa latina y características socioeconómicas de sus vendedores y consumidores. 1996. [Citado el 20 setiembre de 2013]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/83657051/CONTAMINACION-MICROBIANA-DE-LOS-ALIMENTOS-VENDIDOS-EN-LA-VIA-PUBLICA-EN-CIUDADES-DE-AMERICA-LATINA-Y-CARACTERISTICAS-SOCIO-ECONOMICAS-DE-SUS-VENEDORE>
36. Robles HM. Efecto de extractos de productos naturales para controlar la presencia de *Campylobacter jejuni* y *Salmonella spp* en carne molida de pollo. [Tesis]. Nuevo León. Universidad Nacional autónoma de Nuevo Leon, Facultad de Ciencias Biologicas; 2010. [Consultado el 18 de Octubre del 2014]. Disponible en: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080156748.pdf>
37. Garcia RR & Herrera AF. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro. Revista de la facultad de ciencias básicas. [Revista en internet]. 2007 [consultado el 07 de setiembre del 2014];5(2): Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90350207>
38. Garrity G, Brenner D, Krieg N & Staley J. Bergey's manual of systematic bacteriology, the proteobacteria. Springer science & business media.

https://books.google.com.pe/books?id=5zSYmcq0GdgC&dq=bergey%27s+manual+enterobacteriaceae&source=gbp_navlinks_s

ANEXOS

Tabla 03.- Número total de puestos de los 4 mercados y puestos a muestrear del mercado Capullanas y los mercados zonales de Piura.

 Mercados	Puestos	Unidad muestral
Mercado san José	10	9
Mercado santa Rosa	5	5
Mercado san Martín	4	4
Mercado Capullanas	40	39
Total	59	57

Fuente: Municipalidad provincial de Piura.

Tabla 04.- Encuesta realizada a expendedores de cebiche de los mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

La presente encuesta pretende la recopilación de la información, que complemente los resultados de los análisis microbiológicos para la elaboración del proyecto de tesis titulado: “Incidencia de *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus* en cebiche de pescado expendido en establecimientos del mercado Capullanas y mercados zonales de Piura. Mayo – Julio del 2014”

Nº

Puesto Nº _____ Fecha: / /

Edad: _____ Sexo: _____

1.- Mercado al que pertenece

- a.- Mercado anexo ()
- b.- Mercado Central ()
- c.- Plataforma Juan Velazco Alvarado ()
- d.- Mercado de Telas ()

2.- Número de personas que trabajan en el local

1 () 2 () 3 () 4 o más ()

3.- Abastecimiento de agua

- Red Pública ()
- Agua de mesa ()
- Agua de pozo ()
- Agua en baldes ()

4.- Forma de evacuación de aguas sucias

Red de desagüe () en baldes ()

5.- Forma de almacenamiento de residuos sólidos

Baldes () bolsas () baldes y bolsas ()

6.- Aspecto general de limpieza del puesto

Limpio () Sucio ()

7.- Aspecto de general de limpieza de los utensilios

Limpio () Sucio ()

8.- ¿Qué indumentaria presenta?

Mandil () tapaboca () toca () No presenta ()

9.- Número promedio de personas que consumen “Cebiche” en su local por día

<10 () 10-20 () 20-30 () 30-50 () + de 50 ()

10.- Donde adquiere la materia prima para preparar el “Cebiche”

Terminal pesquero () Las Capullanas () Otros mercados ()

11.- Tipo de pescado utilizado.

Refrigerado () fresco ()

12.- La preparación y exhibición del cebiche es:

Exhibido en fuentes () Preparado al instantes ()

13.- Ha recibido algún curso de manipulación de alimentos

Si () No ()

14.-Si asistiera 3 veces al baño cuantas veces se lavaría las manos

0 veces () 1 vez () 2 veces () 3 veces a + _____ ()

Tabla 05.- Directiva sanitaria N°032 MINSA/DIGESA V01, cantidad de muestra a tomar para análisis microbiológicos de alimentos.

Tipo de ensayo	Tipo de muestra	Tipo de envase	Cantidad de muestra	Conservación	Tiempo máximo para el transporte al laboratorio (d)
Microbiológico	Alimentos preparados (Sólidos)	Bolsa de plástico primer uso.	200 ml (b)	Refrigeración (0 a 4 °C)	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Alimentos preparados (Líquidos).	Bolsa de plástico primer uso.	200 ml (b)	Refrigeración (0 a 4 °C)	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Superficies inertes	Frasco de vidrio. (Proporcionado por el Laboratorio).	100 ml Solución diluyente.	Refrigeración (0 a 4 °C)	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Superficies vivas.	Frasco de vidrio. (Proporcionado por el Laboratorio).	100 ml Solución diluyente.	Refrigeración (0 a 4 °C)	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Alimentos y bebidas envasadas.	Envase original.	200 g o ml (c)	Temperatura ambiente	Tan rápido como sea posible y antes de su fecha de vencimiento.
Microbiológico	Conservas	Envase original.	200 g o ml (c)	Temperatura ambiente	Tan rápido como sea posible y antes de su fecha de vencimiento.
Microbiológico	Hortalizas y frutas	Bolsa de plástico primer uso.	500 g (b)	Refrigeración (0 a 4 °C)	Dentro de las 24 horas.
Microbiológico	Productos congelados (Ej. productos cárnicos)	Envase original o bolsa de plástico de primer uso.	200 g (b)	Debajo de -18 °C	Dentro de las 24 horas.

Tabla 06.- Cuadro de resultados para *Staphylococcus aureus* de las muestras analizadas.

Muestra N°

Fecha: / /

PRUEBA BIOQUIMICA	RESULTADOS OBTENIDOS	RESULTADO ESPERADO
GRAM		COCOS GRAM POSITIVOS
CATALASA		POSITIVO
PRUEBA DE COAGULASA		POSITIVO
DNAsa		POSITIVO

Tabla 07.- Cuadro de resultados para *Salmonella spp.* de las muestras analizadas.

Muestra N°

Fecha: / /

PRUEBA BIOQUIMICA	RESULTADOS OBTENIDOS	RESULTADO ESPERADO
GRAM		Bacilos Gram negativos
TSI		K/A ó K/A
LIA		K/K ó K/K
UREA		Negativo
CITRATO		Positivo
VP		Positivo
RM		Negativo
INDOL		Negativo
SIM		Crecimiento

K: alcalino, A: acido

Tabla 08.- Resultados de encuesta por número de puestos y porcentajes del mercado Las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

PREGUNTAS DE ENCUESTA

	SAN JOSE		SANTA ROSA		SAN MARTIN		LAS CAPULLANAS		TODOS LOS MERCADOS	
	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%
Abastecimiento de agua										
a) red publica	5	8.77	5	8.77	0	0	39	68.42	49	85.96
b) agua de mesa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
c) agua de pozo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
d) agua en baldes	4	7.02	0	0	4	7.018	0	0	8	14.04
Total	9	15.79	5	8.77	4	7.018	39	68.42	57	100
Forma de evacuación de aguas sucias										
a) red de desagüe	5	8.77	5	8.77	0	0	39	68.42	49	85.96
b) baldes	4	7.01	0	0	4	7.02	0		8	14.04
Total	9	15.79	5		4	7.02	39	68.42	57	100
En que almacena los residuos solidos										
a) baldes	5	8.77	5	8.77	3	5.26	17	29.82	30	52.63
b) bolsas	3	5.26	0	0	0	0	19	33.33	19	33.33
c) baldes y bolsas	1	1.75	0	0	1	1.75	3	5.26	5	8.77
Total	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100
Aspecto general de limpieza del puesto										
Limpio	7	15.79	4	7.02	4	7.02	37	64.91	52	91.23
Sucio	2	3.51	1	1.75	0	0	2	3.51	5	8.77
Total	9		5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100

Continuación Tabla 08.

PREGUNTAS DE ENCUESTA	MERCADOS									
	SAN JOSE		SANTA ROSA		SAN MARTIN		LAS CAPULLANAS		TODOS LOS MERCADOS	
	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%
<i>Aspecto general de limpieza de los utensilios</i>										
Limpio	8	14.04	5	8.77	4	7.02	38	66.66667	55	96.49
Sucio	1	1.75	0	0	0	0	1	1.754386	2	3.51
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.017544	39	68.42105	57	100
<i>Presencia de indumentaria</i>										
Mandil	8	14.04	5	8.77	4	7.02	17	29.82456	34	59.65
Tapaboca	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gorro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No presenta	1	1.75	0	0	0	0	22	0	23	40.35
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42105	57	100
<i>Nº promedio de personas que consumen cebiche</i>										
<10	2	3.51	3	5.26	0	0	36	63.16	41	71.93
10-20	2	3.51	2	3.51	1	1.75	1	1.75	6	10.53
20-30	3	5.26	0	0	2	3.51	2	3.51	7	12.28
30-50	2	3.51	0	0	1	1.75	0	0	3	5.26
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100

Continuación Tabla 08.

PREGUNTAS DE ENCUESTA	MERCADOS									
	SAN JOSE		SANTA ROSA		SAN MARTIN		LAS CAPULLANAS		TODOS LOS MERCADOS	
	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%
<i>Donde adquiere la materia prima</i>	Hnb									
<i>terminal pesquero</i>	6	10.53	5	8.77	4	7.02	39	68.42	54	94.74
<i>mercado Las Capullanas</i>	2	3.51	0	0	0	0	0	0	2	3.51
<i>Otros mercados</i>	1	1.75	0	0	0	0	0	0	1	1.75
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100
<i>Utiliza pescado fresco o refrigerado</i>										
<i>Refrigerado</i>	1	1.75	2	3.51	2	3.51	8	14.0350	13	22.81
<i>fresco</i>	8	14.04	3	5.26	2	3.51	31	9	44	77.19
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100
<i>La preparación y exhibición del cebiche es:</i>										
<i>exhibido en fuentes</i>	8	14.04	5	8.77	4	7.02	0	0	17	29.82
<i>preparado al instante</i>	1	1.75	0		0	0	39	68.42	40	70.18
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100

Continuación Tabla 08.

PREGUNTAS DE ENCUESTA	MERCADOS									
	SAN JOSE		SANTA ROSA		SAN MARTIN		LAS CAPULLANAS		TODOS LOS MERCADOS	
	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%	# de puestos	%
<i>Ha recibido algún curso de manipulación de alimentos</i>										
<i>Si</i>	6	10.53	2	3.51	1	1.75	9	15.79	18	31.58
<i>No</i>	3	5.26	3	5.26	3	5.26	30	52.63	39	68.42
<i>Total</i>	9	15.79	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100
<i>Si asistiera 3 veces al baño cuantas veces se lavaría las manos</i>										
<i>0 veces</i>	0	0	0	0	0	0	2	3.51	2	3.51
<i>1 vez</i>	1	1.75	2	3.51	0	0	1	1.75	4	7.02
<i>2 veces</i>	1	1.75	1	1.75	0	0	6	10.53	8	14.04
<i>3 veces</i>	7	12.28	2	3.51	4	7.02	30	52.63	43	75.44
<i>Total</i>	9	15.78	5	8.77	4	7.02	39	68.42	57	100

Tabla 09.- Temperatura del ambiente, del alimento y pH de cada una de las muestras de los puestos del mercado las Capullanas y los mercados zonales de Piura.

MERCADOS	Puestos	N° de muestr a	FECHA DE MUESTRAS	T° DEL ALIMENT O	T° DEL AMBIENTE	pH
SAN MARTIN	1	1	14/05/2014	22.5	25.4	4.39
	2	2	14/05/2014	22.7	25.8	5.05
	3	3	14/05/2014	22.9	26.6	5.17
	4	4	14/05/2014	23.0	26.6	5.00
SANTA ROSA	1	5	14/05/2014	23.6	26.7	4.67
	2	6	14/05/2014	23.0	26.5	4.52
	3	7	14/05/2014	23.2	26.4	4.30
	4	8	14/05/2014	23.3	26.4	4.52
	5	9	14/05/2014	21.2	26.2	4.54
SAN JOSE	1	10	19/05/2014	27.6	32.8	5.45
	2	11	19/05/2014	26.6	32.0	4.92
	3	12	19/05/2014	28.0	33.3	5.16
	4	13	19/05/2014	28.7	32.6	4.60
	5	14	19/05/2014	25.8	30.1	4.74
	6	15	19/05/2014	25.6	31.7	3.58
	7	16	19/05/2014	24.3	31.7	4.26
	8	17	19/05/2014	24.8	31.6	4.0
	9	18	19/05/2014	25.2	32.0	4.43
	1	19	25/06/2014	20.3	25.9	4.97
LAS CAPULLANA S	2	20	25/06/2014	22.3	26.1	4.66
	3	21	25/06/2014	18.3	27.1	5.29
	4	22	25/06/2014	23.1	27.5	4.95
	5	23	25/06/2014	22.0	27.7	4.87
	6	24	25/06/2014	22.3	27.7	4.82
	7	25	25/06/2014	19.0	27.6	4.52
	8	26	25/06/2014	21.2	27.8	4.48
	9	27	25/06/2014	20.4	27.6	5.10
	10	28	25/06/2014	21.1	27.7	4.59
	1	29	30/06/2014	20.0	25.2	4.50
	2	30	30/06/2014	23.4	25.3	3.89
	3	31	30/06/2014	22.1	25.2	4.00
	4	32	30/06/2014	23.0	25.2	4.10
	5	33	30/06/2014	23.5	25.5	4.22
	6	34	30/06/2014	22.4	25.4	4.15
	7	35	30/06/2014	20.1	25.3	4.54
	8	36	30/06/2014	25.3	25.4	4.4
	9	37	30/06/2014	24.9	25.6	4.13
	10	38	30/06/2014	25.3	25.4	4.14
	1	39	02/07/2014	22.9	23.3	4.61

	2	40	02/07/2014	22.8	22.8	4.68
	3	41	02/07/2014	22.4	22.4	4.18
	4	42	02/07/2014	22.7	22.7	4.57
	5	43	02/07/2014	21.9	21.9	4.51
	6	44	02/07/2014	22.3	22.9	4.57
	7	45	02/07/2014	22	22.7	4.25
	8	46	02/07/2014	23.1	22.7	4.33
	9	47	02/07/2014	21.5	22.8	4.32
	10	48	02/07/2014	21	22.8	4.15
	1	49	07/07/2014	20.6	21.7	3.58
	2	50	07/07/2014	20.3	21.7	4.26
	3	51	07/07/2014	19.7	21.7	4.10
	4	52	07/07/2014	20.2	22.0	4.43
	5	53	07/07/2014	21.3	22.0	4.40
	6	54	07/07/2014	20.1	22.1	4.20
	7	55	07/07/2014	20.3	22.1	4.33
	8	56	07/07/2014	22.2	22.0	4.23
	9	57	07/07/2014	21.5	22.0	4.20

Tabla 10.- Temperatura y pH máximo, mínimo y moda de las muestras de cebiche analizadas de los puestos del mercado las Capullanas y los mercados zonales

RANGO	T° el ambientes (°C)	T° del alimento(°C)	pH
Máxima	33.3	28.7	5.45
Mínima	21.7	18.3	3.58
Moda	25.4	22.0	4.52

Tabla 11.- Resultados de los análisis microbiológicos de *Staphylococcus aureus* de las colonias sospechosas de cebiche de los puestos de los mercados Las Capullanas y los mercados zonales y la cepa patrón.

MERCADO	MUESTRA Y FECHA	CRECIMIENTO EN AGAR BAIRD PARKER	Coloración GRAM	Catalasa	Manitol	Coagulasa	DNAsa
CEPA PATRÓN <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. aureus 11632.	<i>aureus</i> ATCC	Colonias negras, brillantes rodeadas de una zona clara y con un borde delgado alrededor de las colonias.	Gram positivos	+	+	4+	+
SAN JOSE	M3/19-05-14	Colonias negras, con zona de aclaramiento	Gram positivos	+	-	-	+
LAS CAPULLANAS	M1/07-07-14	Colonias negras rodeadas de una zona de aclaramiento	Gram positivos	+	-	-	-
	M4/07-07-14	Colonias negras rodeadas de una zona de aclaramiento.	Gram positivos	+	-	-	-

+ : Positivo - : Negativo 4+ : aparece el coagulo en todo el contenido

Tabla 12.- Resultados de los análisis microbiológicos de *Salmonella spp.* de las colonias sospechosas de cebiche de los puestos de los mercados las Capullanas y los mercados zonales y la cepa patrón.

MERCADO		SAN JOSE	LAS CAPULLANAS	
MUESTRA	Cepa: <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>Entérica</i> serovar <i>typhimurium</i> . ATCC 13311	M1: m ₃ /19-05-14	M3: m ₁ /25-06-14	M4: m ₃ /07-07-14
PRUEBA BIOQUIMICA				
AGAR XLD	Colonias rosadas con centro negro.	Colonias rosadas con centro negro.	Colonias rosadas con centro negro.	Colonias rosadas con centro negro.
AGAR SS	Colonias transparentes con centro negro.	Colonias transparentes con centro negro	Colonias transparentes con centro negro	Colonias transparentes con centro negro
Coloración de GRAM	Gram negativa	Gram negativa	Gram negativa	Gram negativa
TSI	K/A+G+H ₂ S	K/A+G+H ₂ S	A/A+G+ H ₂ S	K/A+G+ H ₂ S
LIA	K/K + H ₂ S	R/R	K/A+H ₂ S	K/A+H ₂ S
UREA	-	- v	-	-
CITRATO	+	+	+	+
VP	-	-	-	-
RM	+	+	+	+
INDOL	-	-	-	-
MOTILIDAD	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+

K: alcalino A: ácido G: gas R: rojizo +: positivo

-: negativo

H₂S: producción de ácido sulfhídrico

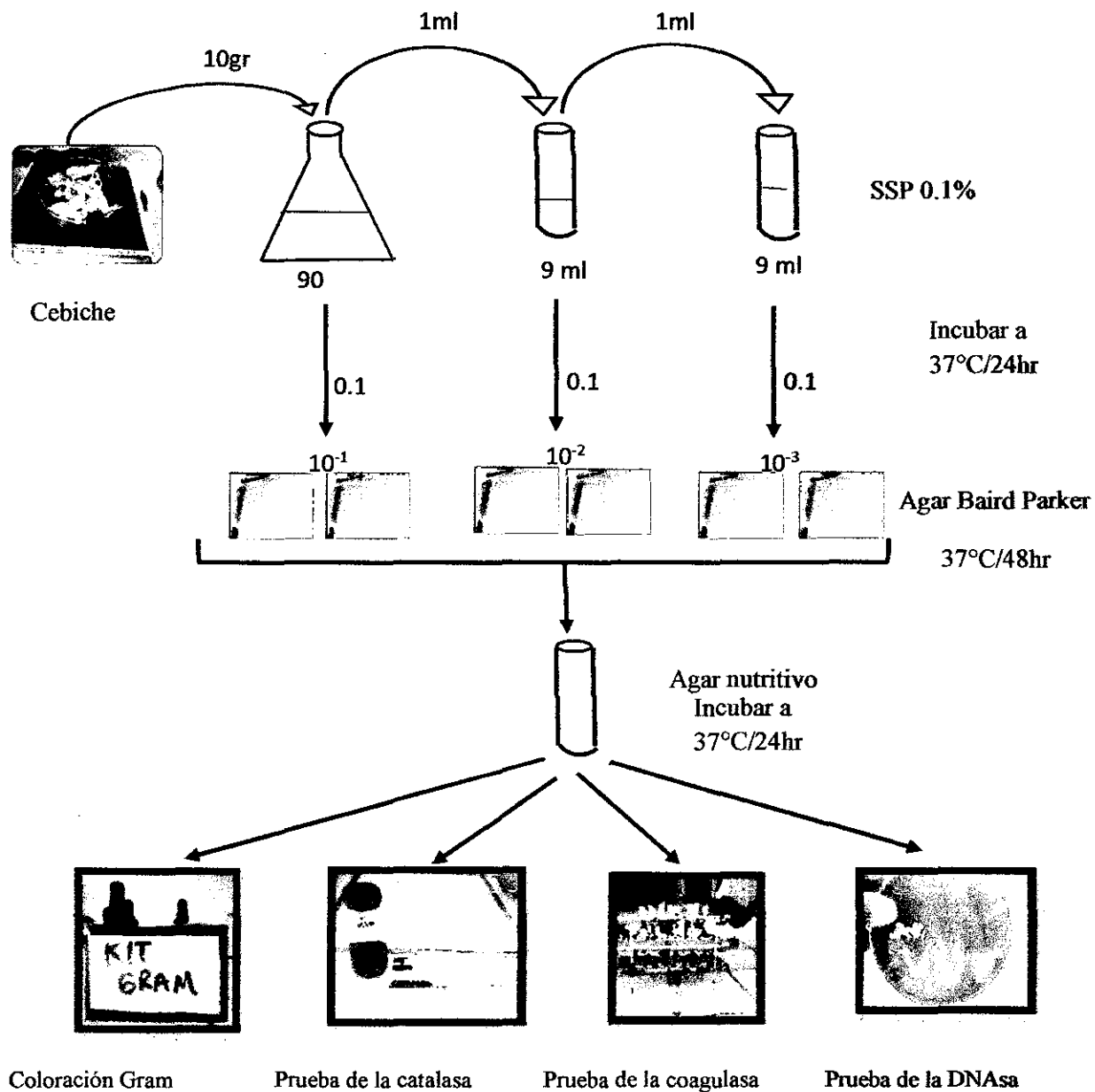


Fig.08.- Análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus*.

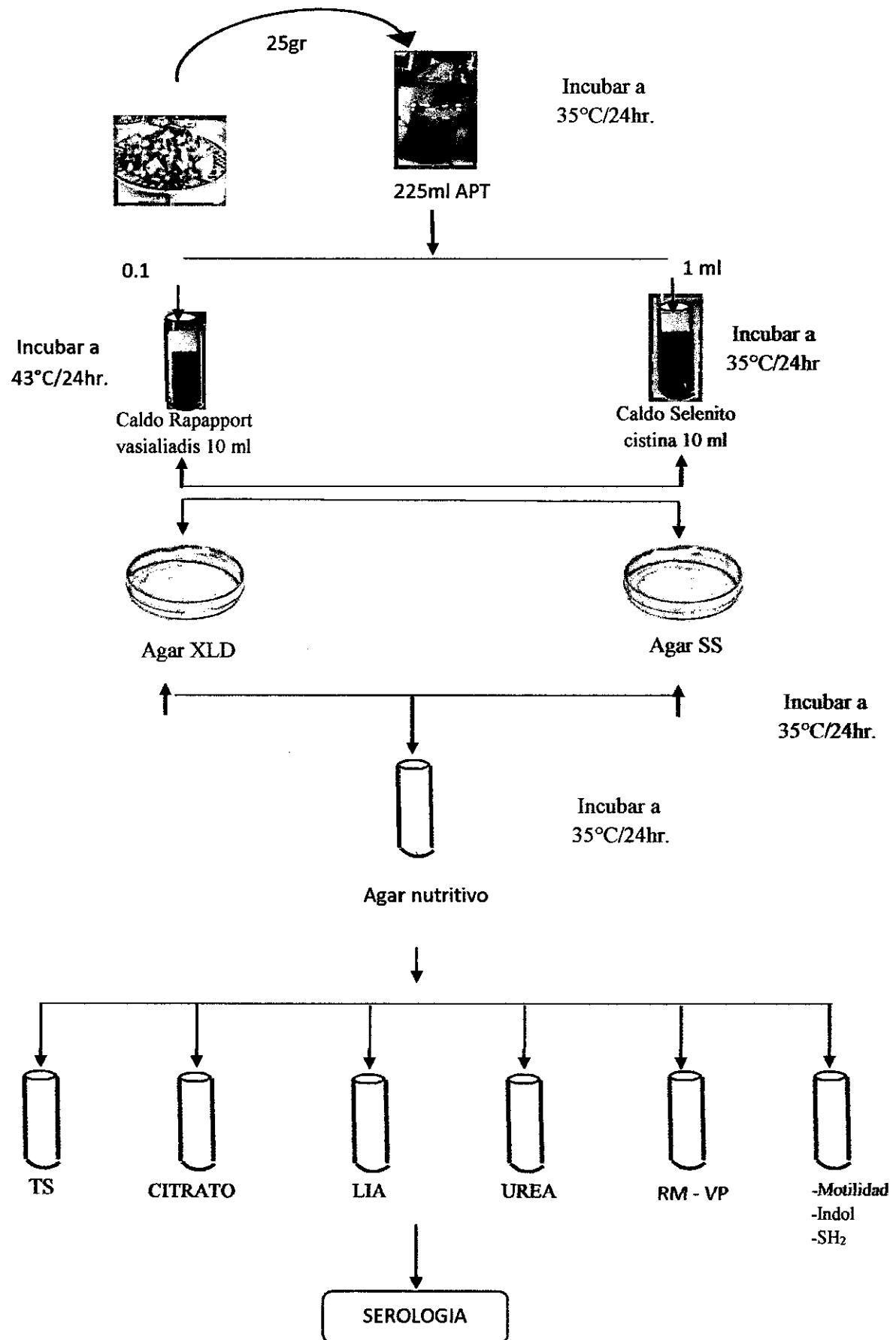


Fig. 09.- Análisis microbiológicos de *Salmonella* spp.

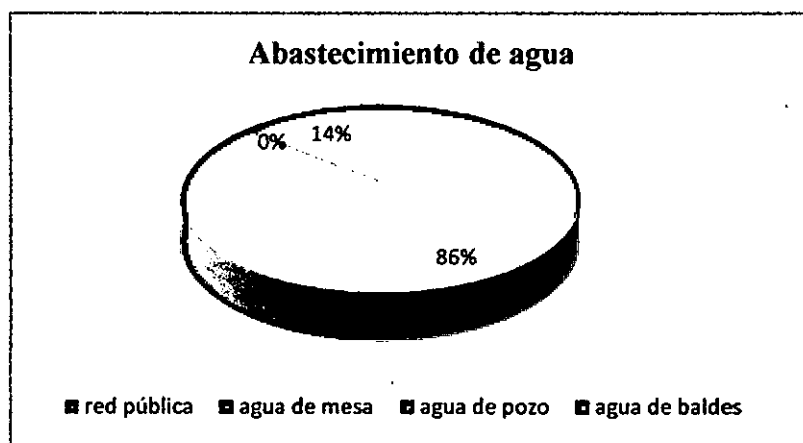


Fig. 10.- Abastecimiento de agua de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

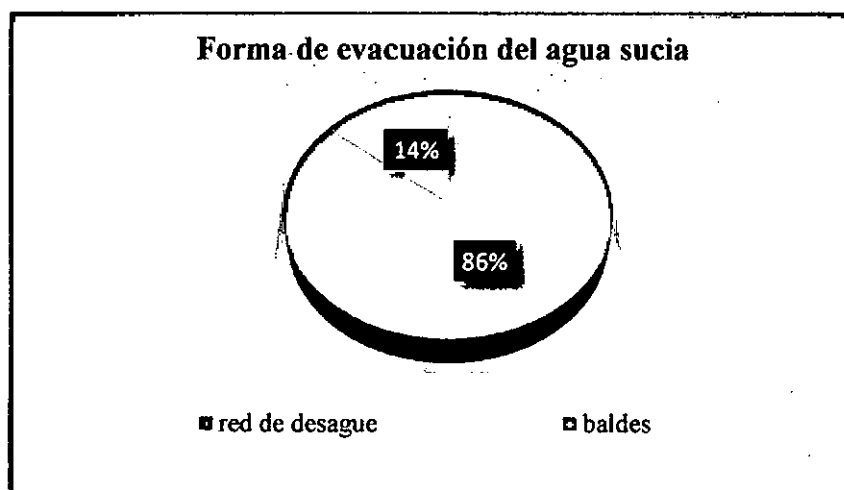


Fig. 11.- Forma de evacuación de aguas sucias de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

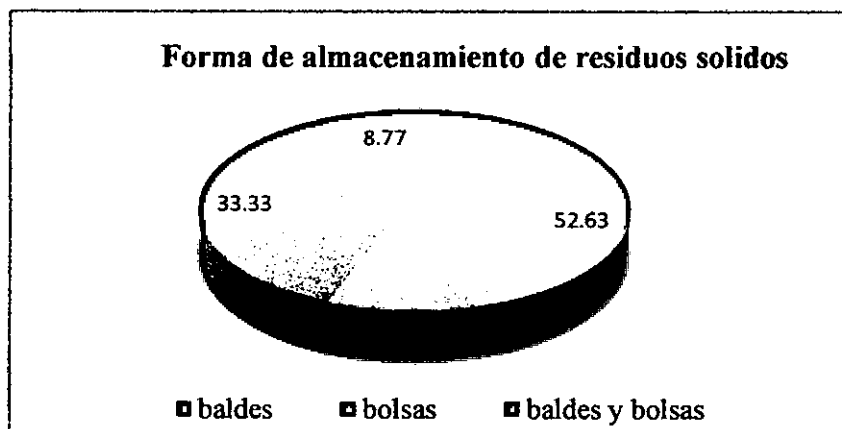


Fig. 12.- Formas de almacenamiento de residuos sólidos en los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

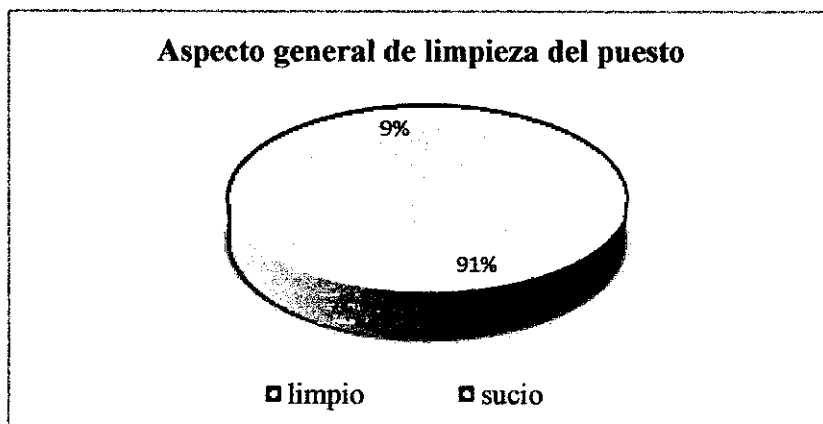


Fig. 13.- Aspecto general de limpieza de los puestos de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

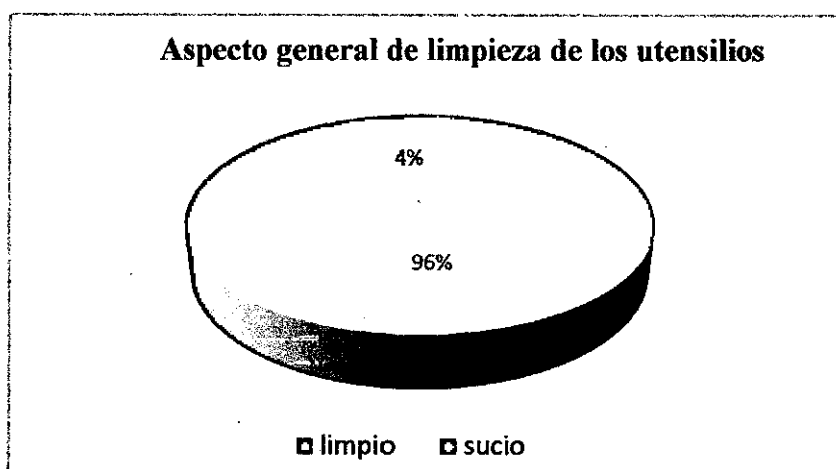


Fig. 14.- Aspecto general de limpieza de utensilios de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

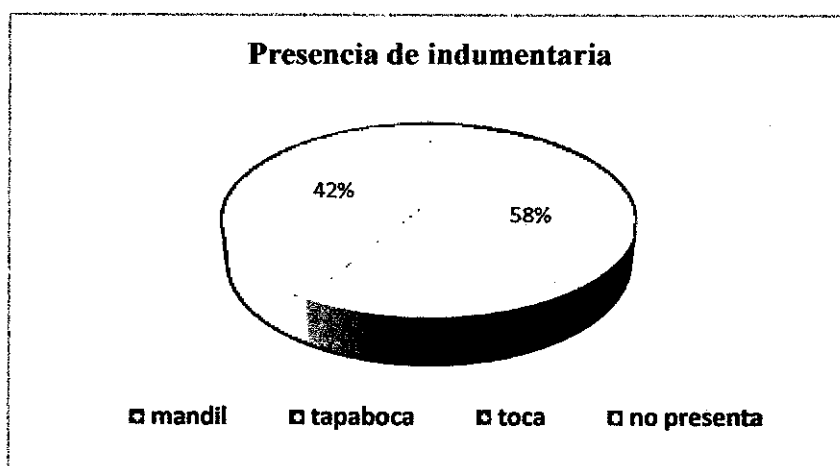


Fig.15.- Presencia de indumentaria en los expendedores de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

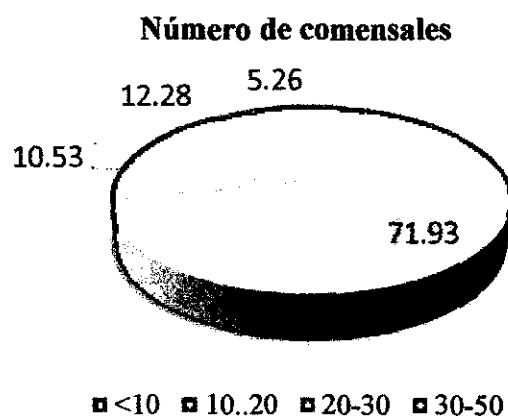


Fig. 16.-Número de comensales de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

Tipo de pescado que utilizan

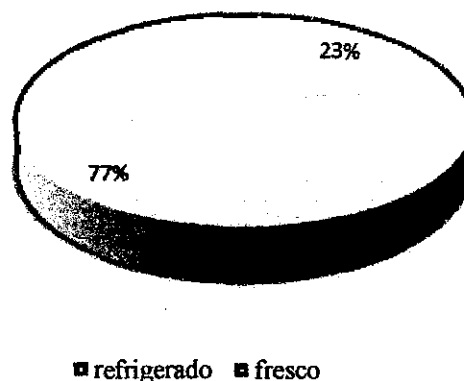


Fig. 17.-Tipo de pescado utilizado en los puestos de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

Preparación y exhibición del cebiche

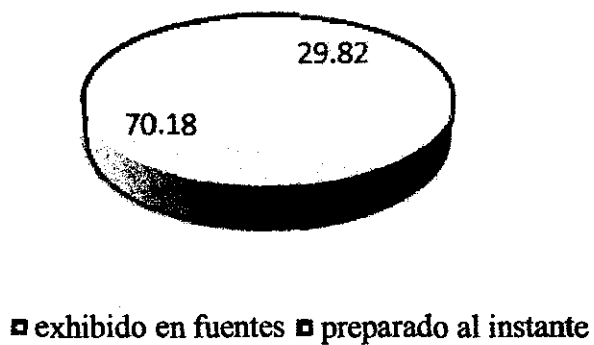


Fig. 18.-Preparación y exhibición del cebiche en los puestos de los mercados las Capullanas y zonales de Piura.

Capacitación en manipulación de alimentos a expendedores de los mercados

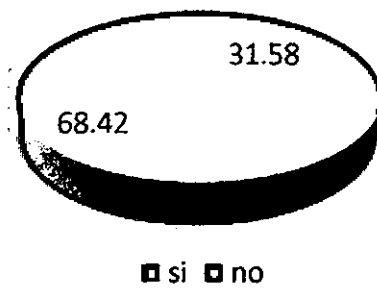


Fig. 19.- Capacitación en manipulación de alimentos a expendedores de cebiche de los mercados Las Capullanas y zonales de Piura.

Lavado de manos de los expendedores al usar los SS.HH

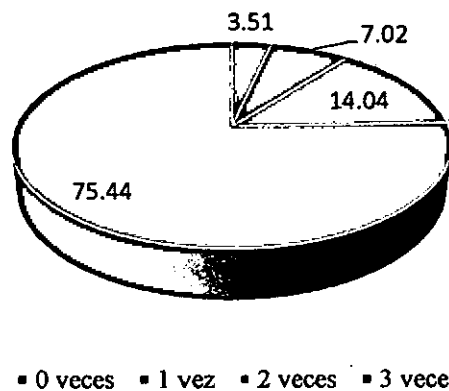


Fig. 20.- Lavado de manos de los expendedores al usar los SS.HH.



Fig.21.- Crecimiento en Agar Baird Parker de la Cepa *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632.



M3/19-05-14 mercado San José



M1/07-07-14 mercado las Capullanas



M4/07-07-14 mercado las Capullanas

Fig.22.- Crecimiento en Agar Baird Parker de las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

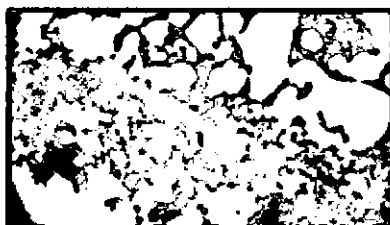
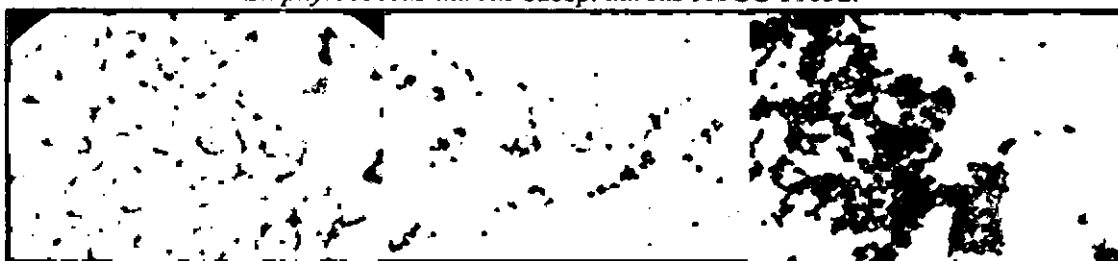


Fig.23.- Coloración de Gram (cocos Gram positivos) Cepa *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632.



M3/19-05-14 mercado San José. M1/07-07-14 Las Capullanas. M4/07-07-14 Las Capullanas.

Fig.24.- Coloración de Gram (cocos Gram positivos) de colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

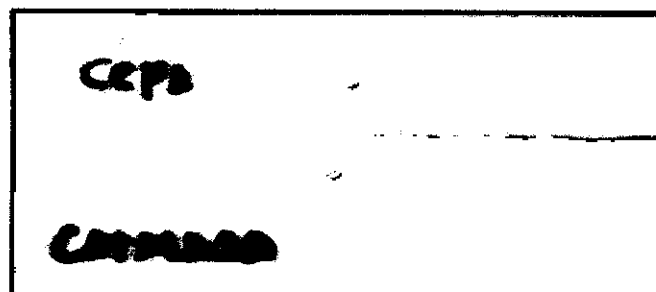


Fig.25.- Prueba de la catalasa: Cepa *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632. Catalasa positiva



M3/ 19-05-14 San José.

M1/ 07-07-14 Las Capullanas

M4/ 07-07-14 Las Capullanas.

Fig.26.- Prueba de la catalasa de las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*

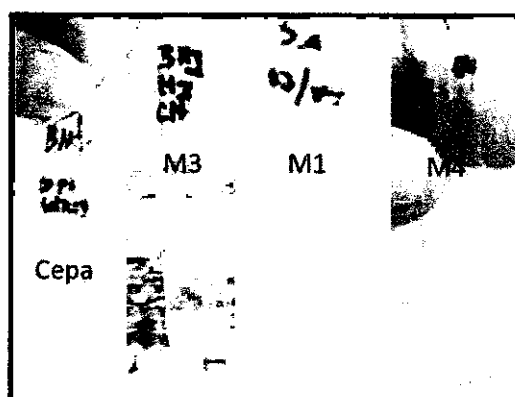


Fig.27.- Prueba de la coagulasa de la cepa *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 11632. Y las muestras del mercado San José y Las

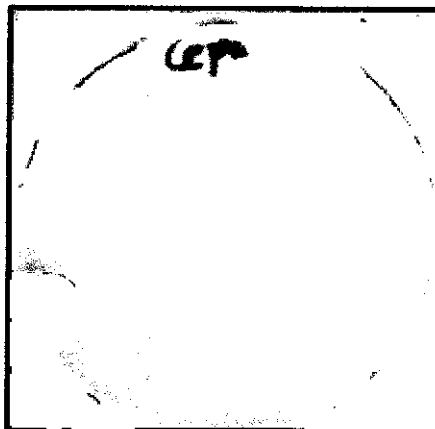


Fig.28.- Prueba DNAsa: Cepa *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC 11632. DNAsa positiva.

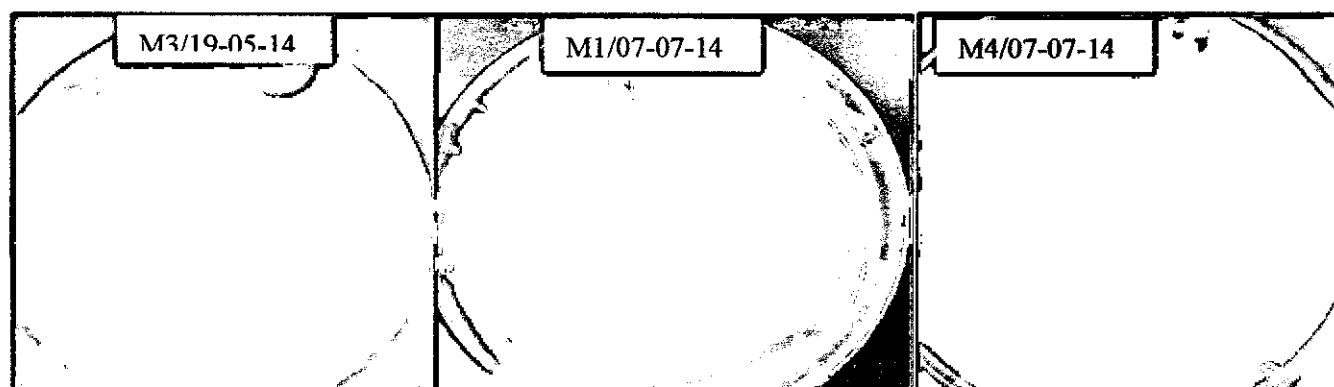


Fig.29.- Prueba DNAsa de las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

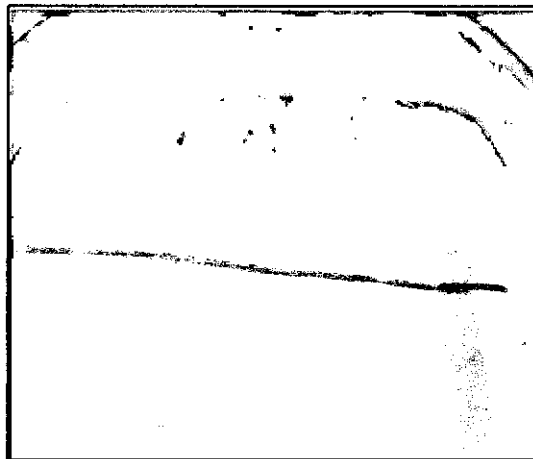


Fig.30.- Prueba Manitol: Cepa *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC 11632. DNAsa positiva.

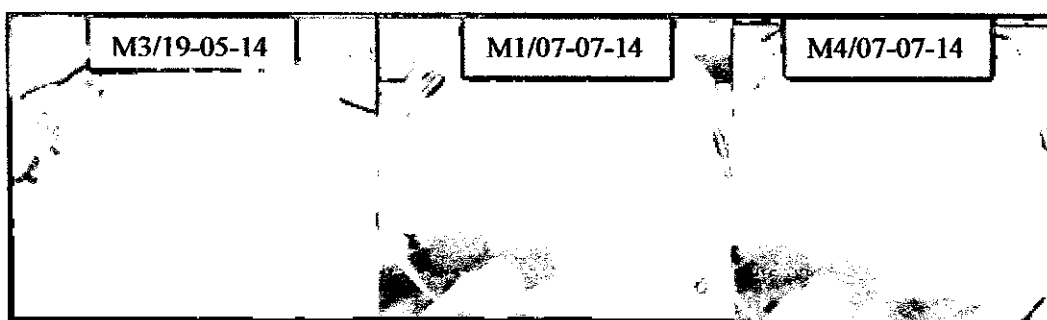


Fig.31.- Prueba de manitol de las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

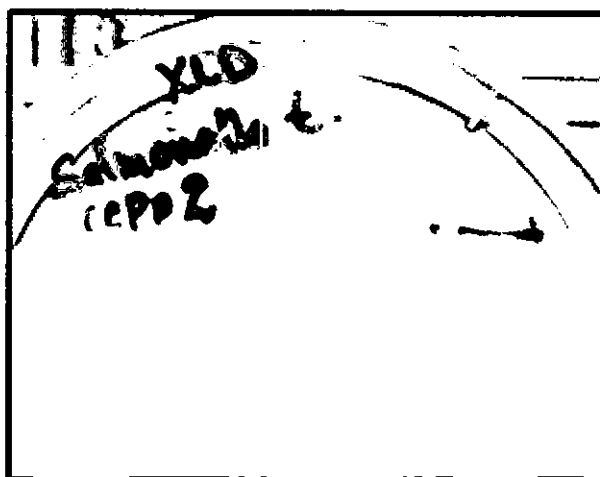


Fig.32.- Crecimiento en Agar XLD: *Salmonella* entérica subsp. *Entérica serovar typhimurium*.

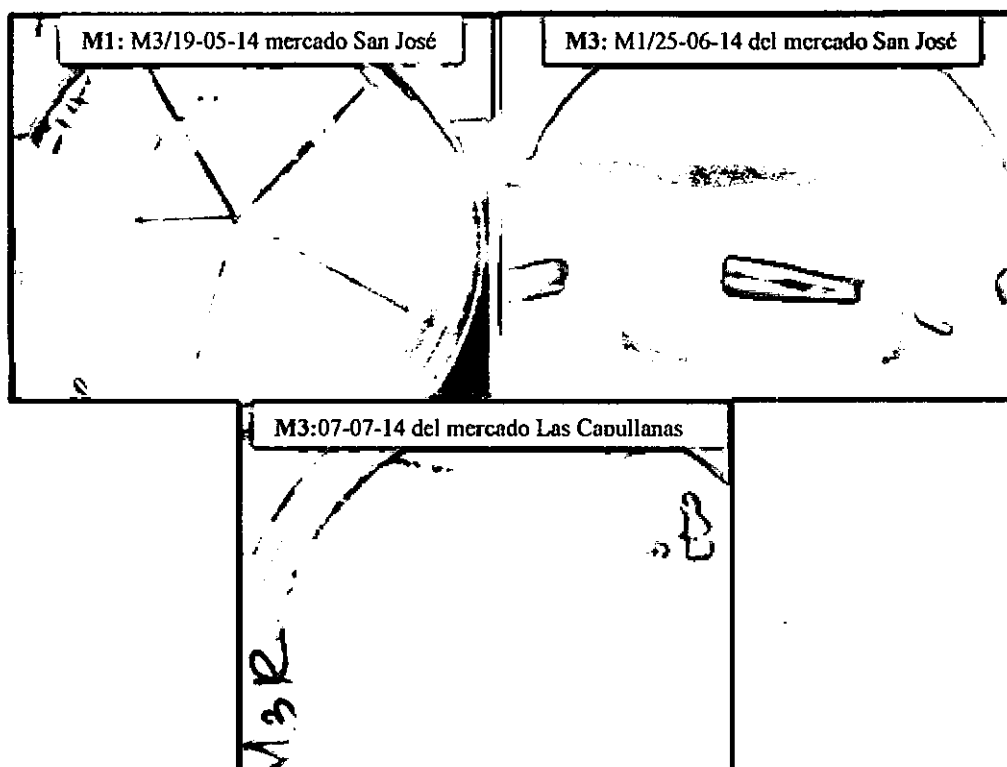


Fig.33.- Crecimiento en Agar XLD: de las colonias sospechosas de *Salmonella spp.*

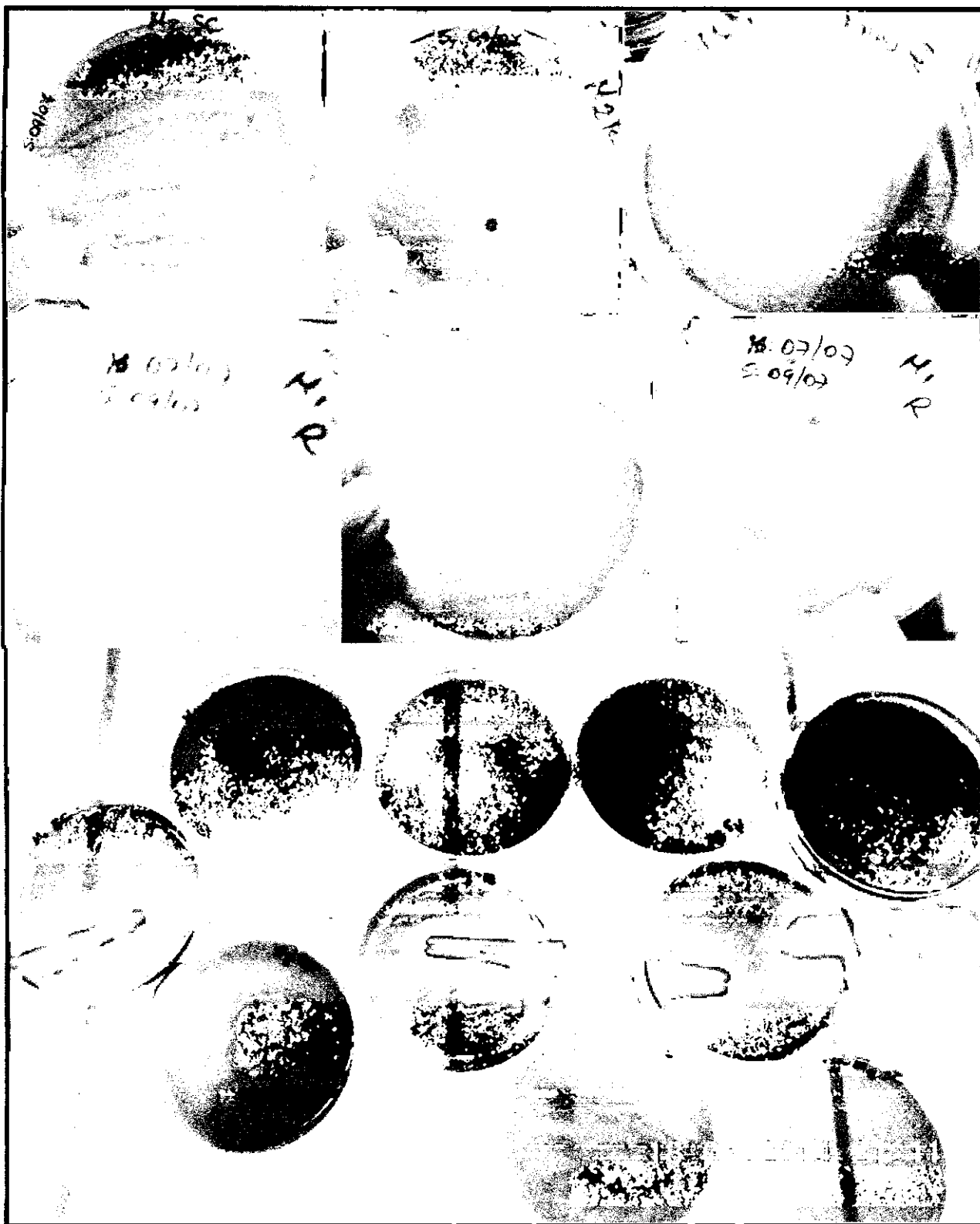


Fig.34.- Placas de Agar XLD que no presentaron colonias sospechosas de *Salmonella spp.*

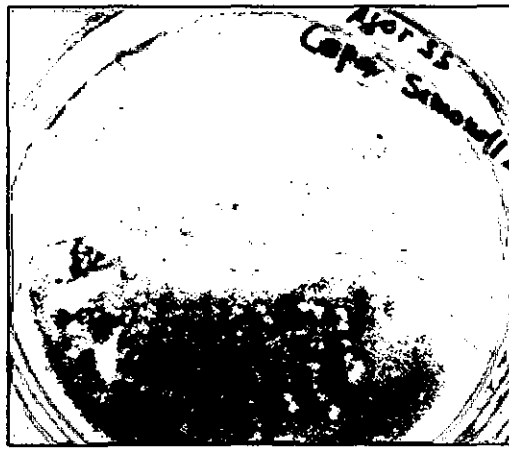


Fig.35.- Crecimiento en Agar SS: *Salmonella* entérica subsp. Entérica serovar typhimurium.

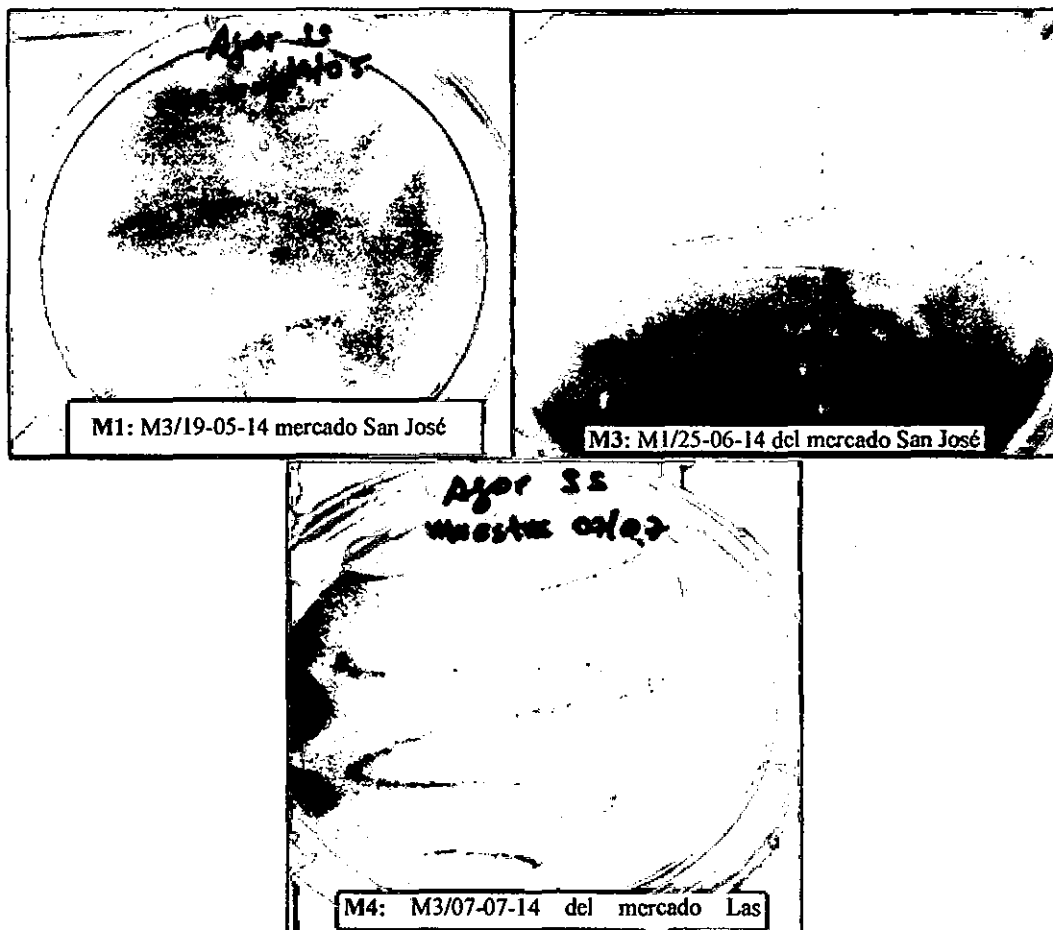


Fig.36.- Crecimiento en Agar XLD: de las colonias sospechosas de *Salmonella* spp.

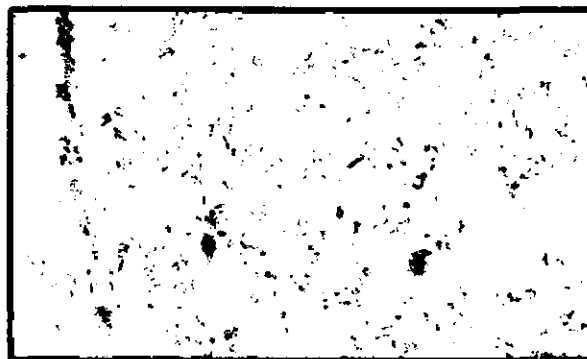


Fig.37.- Coloración de Gram (bastones Gram negativos) Cepa *Salmonella* entérica subsp. *Entérica* serovar. *typhimurium*

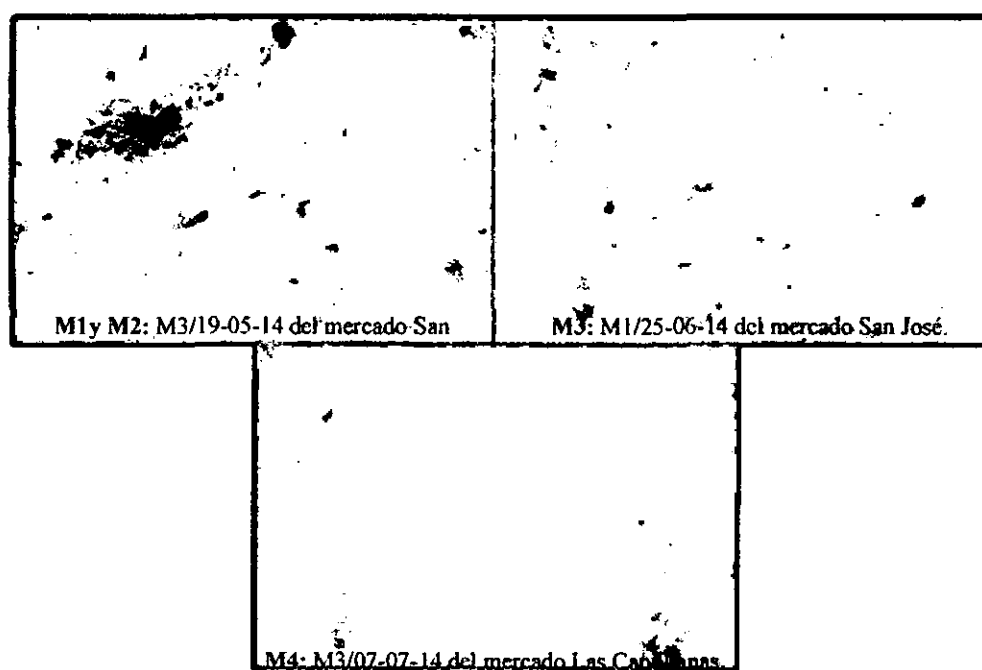


Fig.38. Coloración de Gram: colonias sospechosas de *Salmonella* spp.

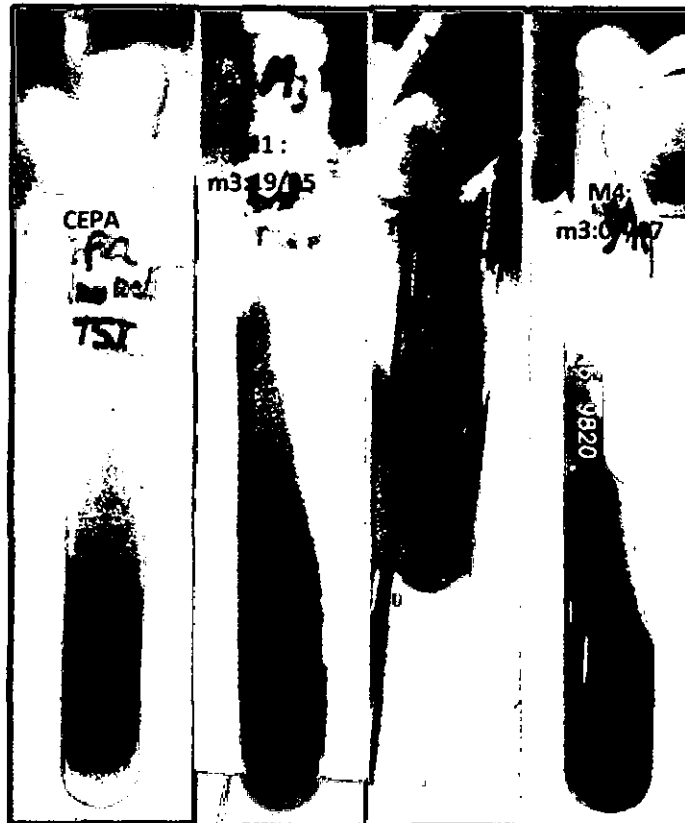


Fig.39.- Prueba de Agar triple azúcar hierro (TSI) de las colonias sospechosas y la cepa patrón: *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar.typhimurium*

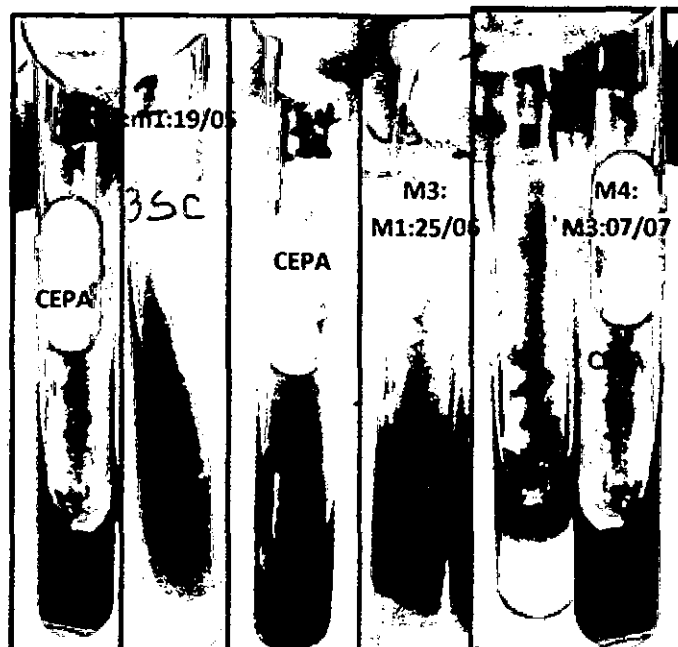


Fig.40.- Prueba de Lisina hierro (LIA) de las colonias sospechosas y la cepa patrón *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar.typhimurium*

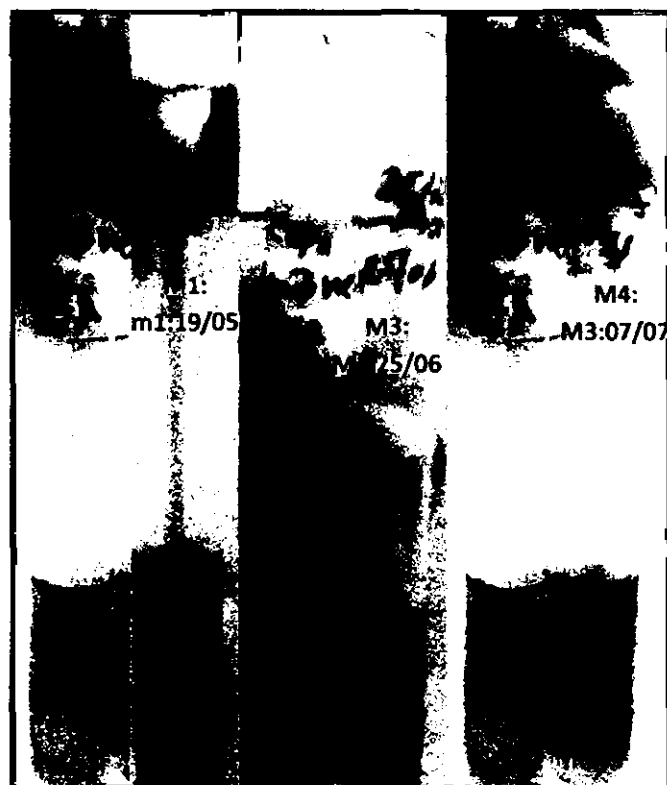


Fig.41.- Prueba de la Urea de las colonias sospechosas y la cepa patrón *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar. Typhimurium*

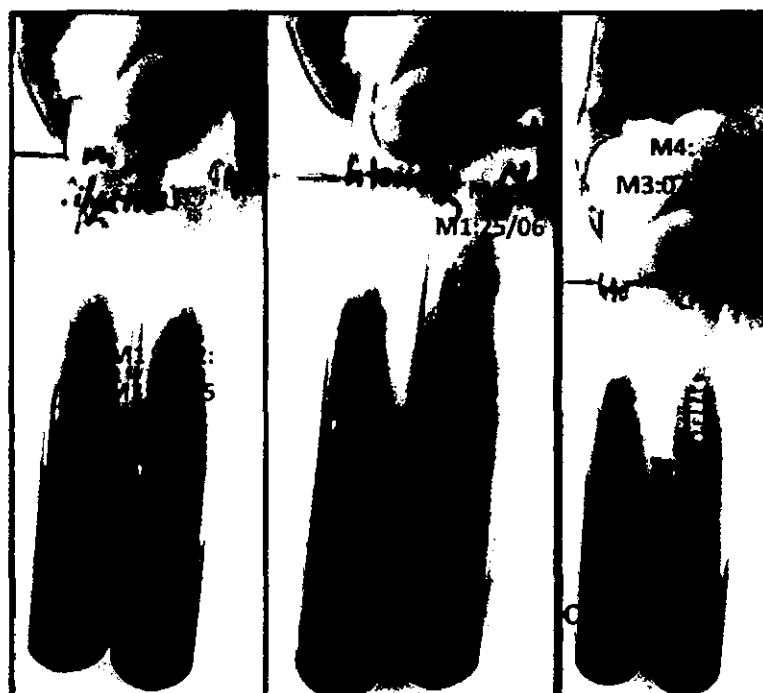


Fig.42.- Prueba de citrato de Simmons para las colonias sospechosas y la cepa patrón: *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar. typhimurium*

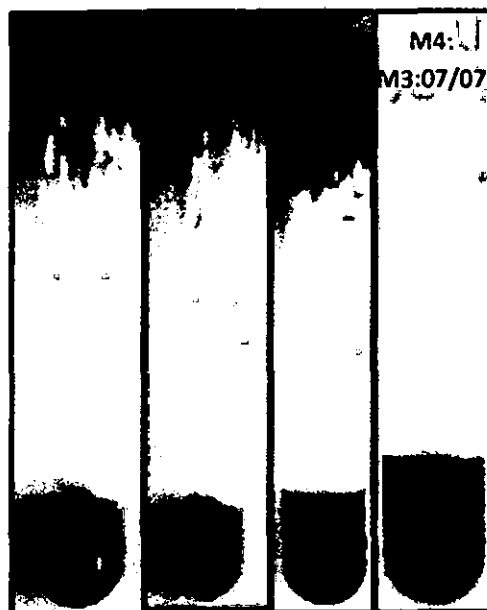


Fig.43.- Prueba de ROJO DE METILO para las colonias sospechosas y la cepa patrón: *Salmonella entérica subsp. Entérica serovar. Typhimurium*

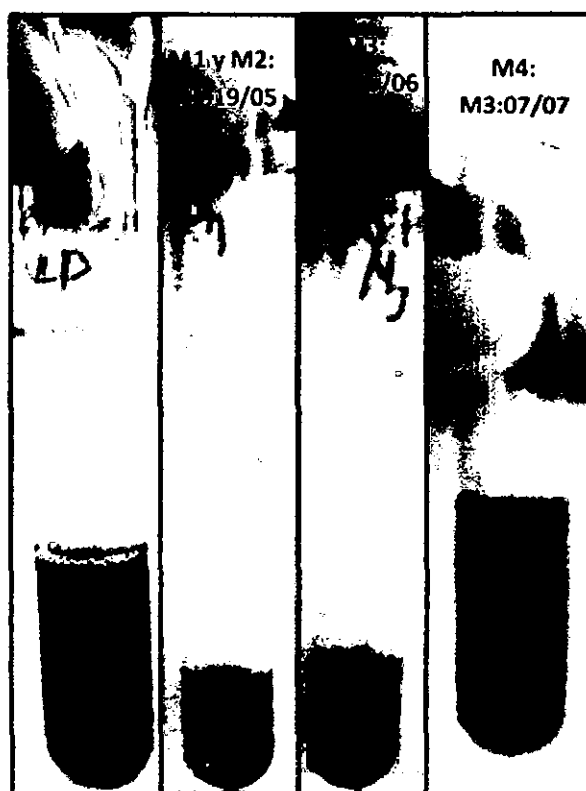


Fig.44.- Prueba de VOGUES PROSKAUER para las colonias sospechosas y la cepa patrón: *Salmonella entérica subsp. Entérica serovar. Typhimurium*

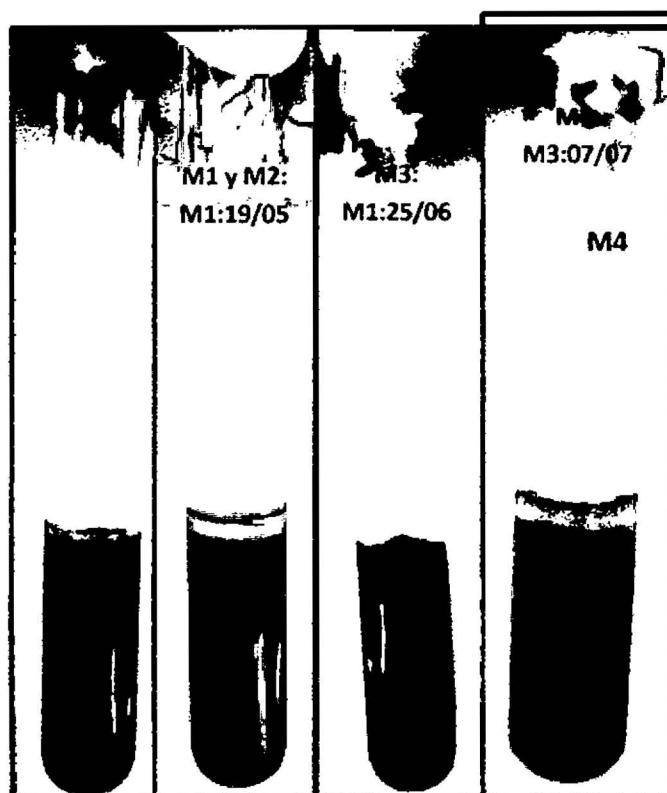


Fig.45.- Prueba de SIM de la cepa patrón: *Salmonella enterica subsp. Enterica* serovar. *Typhimurium* y las colonias sospechosas



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN 3
ESTABLECIMIENTO CONSULTORIO PARTICULAR
LABORATORIO ENTEROPATOGENOS
ENFERMEDAD ENTEROPATOGENOS
MÉDICO
DOC REFERENCIA BV 6025353 **FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA** 19/05/2014
TIPO DE MUESTRA CEPA **FECHA DE RECEPCION LAB REG**
CODIGO DE MUESTRA INS022676214 **FECHA DE RECEPCION EN INS** 22/05/2014

PRUEBAS

CULTIVO Y TIFIFICACION PARA SALMONELLA	Res Laboratorio de Origen:	Res Lab Referencial Fecha: 03/10/2014 Proteus mirabilis	COMENTARIOS
CODIGO LABORATORIO ENTEROPATOGENOS		4.581-2014	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Elsa. María Luz Zamudio Rojas
C.B.P. 2315

Cascar Yaponqui 1400 Teléfono 4719920 Jesús María Lima 11

Fecha: 09/10/2014 Hora: 8:45 a.m.

Fig.46.- Resultados emitidos por el Instituto Nacional de la Salud.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN	4		
ESTABLECIMIENTO	CONSULTORIO PARTICULAR		
LABORATORIO	ENTEROPATOGENOS		
ENFERMEDAD	ENTEROPATOGENOS		
MEDICO			
DOC REFERENCIA	BV 0025353	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	19/05/2014
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
CODIGO DE MUESTRA	INS022578314	FECHA DE RECEPCION EN ITS	22/05/2014

PRUEBAS

CULTIVO Y TIPIFICACION PARA SALMONELLA	Res Laboratorio de Origen:	Res Lab Referencial	COMENTARIOS
		Fecha: 03/10/2014	
		Citrobacter freundii	
		Enterobacter aerogenes	
CODIGO LABORATORIO ENTEROPATOGENOS		4.682-2014	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Bga. María Luz Zamudio Rojas
C.B.P. 2315

Urb. Yancapel 1400 Teléfono 4718920 Jesús María Lima 11

Fecha: 05/10/2014 Hora: 04:45 a.m.

<https://www.netlab.ins.gob.pe>

 Usted se encuentra en una zona segura

Fig.47.- Resultados emitidos por el Instituto Nacional de la Salud.